

Zur Physiologie der pathogenen Schimmelpilze *Absidia Lichtheimi* und *Absidia ramosa* mit besonderer Berücksichtigung des Wirkstoffbedürfnisses

Autor(en): **Vogt, R.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen der Naturforschenden Gesellschaft in Bern**

Band (Jahr): **3 (1946)**

PDF erstellt am: **28.06.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-319430>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

R. Vogt

Zur Physiologie der pathogenen Schimmelpilze *Absidia Lichtheimi* und *Absidia ramosa* mit besonderer Berücksichtigung des Wirkstoffbedürfnisses

Einleitung

Systematik und Oekologie

Tabelle 1 gibt einen Ueberblick über die systematischen Merkmale von *Absidia ramosa* Lendner und *Absidia Lichtheimi* Lendner. Es wurden hierbei die Systematiker Lendner, Zycha und Naumov berücksichtigt.

Der systematische Vergleich von *Absidia ramosa* und *Absidia Lichtheimi* zeigt, dass es sich um zwei sehr nahe verwandte, makroskopisch kaum voneinander zu unterscheidende Arten handelt. Ein Teil der Merkmale dürfte sich unter verschiedenen Milieubedingungen und bei verschiedener Art der Impfung als nicht konstant erweisen. Ich erhielt z. B. mit *Absidia Lichtheimi* und *Absidia ramosa* Var. *Rasti*, wenn die Sporen gleichmässig über das ganze Substrat verstrichen wurden, nur ein filziges Mycel von wenigen mm Höhe (gegenseitige Konkurrenz der Keimpflanzen!), bei sehr schwacher Impfung (leichtes Berühren der Mitte des Nährbodens mit der Impfnadel) ein gut entwickeltes Luftmycel von 1 bis 2 cm Höhe. Dennoch lassen sich nach den Beschreibungen der drei Systematiker Zycha, Lendner und Naumov die beiden Arten durch die Grösse und die Form der Sporen voneinander unterscheiden. *Absidia ramosa* besitzt etwas grössere und länglich-ovale, *Absidia Lichtheimi* kleinere, rundliche und rundlichovale Sporen. Lendner beschreibt unter *Absidia ramosa* die Varietäten *Rasti* und *Zürcheri*, Naumov dazu ausserdem eine *forma typica*, die sich aber kaum von der Var. *Rasti* unterscheiden lässt. Zycha ordnet die beiden Varietäten

Tabelle 1.

Uebersicht der systematischen Merkmale der Arten *Absidia Lichtheimi* (= *Lichtheimia corymbifera* Vuillemin bei Naumov) und *Absidia ramosa* (= *Lichtheimia ramosa* Vuillemin bei Naumov).

	Zycha	Lendner	Naumov
Sporangienträger Abs. ram.	sympodial oder wirtelig verzweigt, ohne Querwand unter dem Sporangium	fertile Aeste weniger verzweigt als bei Abs. Lichtheimi, nicht bogenförmig zurückgekrümmt, ohne Querwand unter dem Sporangium	bis zur 3. Ordn. verzweigt
Abs. Lichth.	niederliegend, sympodial oder wirtelig verzweigt, mit Querwand unter dem Sporangium	niederliegend, in Doldentrauben verzweigt	Achsen 1. Ordn. zurückgebogen, oben reich monopodial od. sympodial od. häufiger in Doldentrauben od. Dolden verzweigt, bis zu 2. (—3.) Ordn.
Apophyse und Kolumella Abs. ram.	schieferblau oder violett, etwa 50 μ breit, glatt und ohne Fortsätze	Kolumella selten konisch, eher abgerundet, leicht verlängert, nie in eine Spitze auslaufend, 40—57,5 μ breit, dunkelschieferblau	Kolumella genau halbkugelig, (16) 25—30 (33) μ Durchmesser, schwärzlich
Abs. Lichth.	Kolumella + halbkugelig, mit grosser farbloser Apophyse und oft mit einem kurzen Fortsatz, bis 40 μ breit	Kolumella breit, halbkugelig oder kugelig, 10—20 μ breit, glatt oder mit kurzen Fortsätzen, grau oder bräunlich	Kolumella meist konisch, grau od. bräunlich, 11—50 μ breit
Sporangien Abs. ram.	birnförmig	birnförmig	birnförmig, 33—50—70 μ Durchmesser
Abs. Lichth.	birnförmig, grau, 40—70 μ Durchm.	birnförmig, 45—60 μ , kleinste 10—20. grösste bis 70 μ Durchm.	birnförmig, (10—25) 40—60 (70) μ Durchm. ungefärbt

	Zycha	Lendner	Naumov
Sporen Abs. ram.	langoval oder zylindrisch, meist $2,8 \times 4,8$ (selten $2,6 \times 4,6$ und $3,0 \times 5,2$) μ	oval oder zylindrisch, hellbraun, $2,8 \times 4,78$ (auch $2,6 \times 4,56$ und $3,0 \times 5,2$) μ	zylindrisch oder schmalelliptisch, $2,5-3 \times 4-5$ μ , seltener kugelig, $2,8-4,2$ μ Durchmesser = forma typica
Abs. Lichth.	farblos, oval, seltener kugelig, $2 \times 3-3,5 \times 4,5$ μ	kugelig oder seltener oval, ungefärbt, 2×3 (einzelne $4 \times 6,5$ μ)	kugelig, oft breitelliptisch, meist ungefärbt, $2,7-4,2$ μ Durchmesser
Höhe und Farbe des Mycels Abs. ram.			bis 6 mm (forma typica)
Abs. Lichth.	bis 20 mm, weiss, bei alten Kulturen hellgrau	weiss oder hellgrau, wollig, bis 2 cm (auf Brot), 1 cm (auf Bierwürzegeleatine)	blassgrau bis 1 cm
Abs. ramosa Var. Rasti Lendn.		Mycel 1 cm hoch, bläulichgrau, Sporen gleich gross wie bei Var. Zürcheri, jedoch etwas elliptischer. Sporangien meist etwas grösser und zahlreicher als bei der Var. Zürcheri Sporen oft anorm.	Mycel nicht über 1 cm hoch, bläulichgrau, Sporen elliptisch, von nicht konstanter Form, $4-5 (-6) \times 3-3,5$ μ , oft unregelmässig
Abs. ramosa Var. Zürcheri Lendner		Mycel 4 cm hoch, reinweiss, Sporen ohne Abnormität	Mycel mehrere cm hoch, reinweiss, Sporen stets regelmässig, $(3,5)-4-5 \times 2,5-3(-4)$ μ
Abs. Lichtheimi Var. Rasti	Rasen bläulichgrau, 1 cm hoch, Kolumella schieferblau, glatt, Sporen $3-3,5 \times 4-5$ μ oval, oft unregelmässig		
Abs. Lichtheimi Var. Zürcheri	Rasen weiss, 4 cm hoch, Sporangien spärlich		

Rasti und *Zürcheri* mit Begründung durch die Sporenform vorläufig unter *Absidia Lichtheimi* ein. Da sowohl nach Naumov als auch nach Lendner bei *Absidia ramosa* Var. *Rasti* Sporenabnormitäten (ausgebuchtete und rundliche Sporen, ähnlich wie bei *Absidia Lichtheimi*) vorkommen können, werden weitere Untersuchungen nötig sein, um festzustellen, ob sich die Merkmale, Form und Grösse der Sporen, als konstant erweisen und zur Unterscheidung der zwei Arten *Absidia ramosa* und *Absidia Lichtheimi* als genügend betrachtet werden können.

Für meine Untersuchungen verwandte ich den auch von Schopfer benützten Stamm von *Absidia ramosa* aus Baarn. Im Laufe meiner Arbeit erhielt ich durch die freundliche Vermittlung von Herrn Pd. Dr. Blumer aus dem Tierspital in Bern (Prof. Schmid) eine Reihe von Kulturen, die mit Rindermundspeichel geimpft worden waren.¹⁾ Sie enthielten verschiedene Pilze und Bakterien. Ich konnte daraus neun Stämme isolieren, die makroskopisch teilweise mit dem Stamm *Absidia ramosa* aus Baarn, teilweise mit *Absidia ramosa* Var. *Zürcheri* nach Lendner übereinstimmten. Um die Zugehörigkeit der verschiedenen Stämme zu den Arten *Absidia ramosa* und *Absidia Lichtheimi* abzuklären, erfolgte eine genaue mikroskopische Untersuchung. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 zusammengestellt. In der Art *Absidia ramosa* wurden die beiden Varietäten *Rasti* und *Zürcheri* gefunden, die mit der Charakterisierung von Lendner übereinstimmen. Sporenabnormitäten beobachtete ich bei *Absidia ramosa* Var. *Rasti* nicht. In der Art *Absidia Lichtheimi* konnte nur eine Form festgestellt werden, die sich makroskopisch nicht von *Absidia ramosa* Var. *Rasti* unterscheidet (graues Mycel von 1 bis 2 cm Höhe), jedoch kleinere, rundliche und rundlichovale Sporen besitzt. Diese Form stimmt mit der Beschreibung von Lendner überein, der bei dieser Art keine Varietäten anführt. Die Varietät *Rasti* von *Absidia Lichtheimi* nach Zycha stimmt mit der Artbeschreibung von *Absidia Lichtheimi* nach Lendner überein. Obschon ich die von Zycha beschriebene Varietät *Zürcheri* unter den mir zur Verfügung stehenden Stämmen nicht fand, scheint es mir nicht ausgeschlossen zu sein, dass die beiden Varietäten *Rasti* und *Zürcheri*, sowohl bei *Absidia Lichtheimi* als auch bei *Absidia ramosa*, vorkommen könnten.

¹⁾ Ich möchte an dieser Stelle den Herren Prof. Schmid und Dr. Pd. Blumer bestens für die Ueberlassung dieser Kulturen danken.

Tabelle 2.

Liste der untersuchten Stämme von *Absidia ramosa* und *Absidia Lichtheimi* (Sporengrößen als Mittelwerte aus 40 Messungen).²⁾

	Sporen- form Mycel	Länge	Breite	$\frac{\text{Länge}}{\text{Breite}}$
<i>Absidia ramosa</i> nach Lendner und Zycha Normalwert Grenzwerte	*	4,8 μ 4,6–5,2	2,8 μ 2,6–3,0	1,71 μ 1,77, 1,73
<i>Absidia Lichtheimi</i> nach Zycha und Lendner	**	3–4,5	2–3,5	1,5–1,29§
<i>Absidia ramosa</i> , Stamm aus Baarn = <i>Absidia Lichtheimi</i> Var. <i>Rasti</i>	** +	3,59	2,93	1,23 §§
<i>Absidia Lichtheimi</i> Var. <i>Rasti</i> , Stamm I aus Tierspital	** +	3,6	2,93	1,23 §§
<i>Absidia Lichtheimi</i> Var. <i>Rasti</i> , Stamm II aus Tierspital	** +	3,43	2,86	1,20 §§
<i>Absidia Lichtheimi</i> Var. <i>Rasti</i> , Stamm III aus Tierspital	** +	3,61	3,01	1,20 §§
<i>Absidia Lichtheimi</i> Var. <i>Rasti</i> , Stamm IV aus Tierspital	** +	3,52	2,94	1,20 §§
<i>Absidia Lichtheimi</i> Var. <i>Rasti</i> , Stamm V aus Tierspital	** +	3,61	2,85	1,27 §§
<i>Absidia ramosa</i> Var. <i>Rasti</i> aus Tierspital	* +	4,97	2,88	1,73
<i>Absidia ramosa</i> Var. <i>Zürcheri</i> , Stamm I aus Tierspital	* ++	4,69	2,81	1,67
<i>Absidia ramosa</i> Var. <i>Zürcheri</i> , Stamm II aus Tierspital	* ++	4,81	2,78	1,73
<i>Absidia ramosa</i> Var. <i>Zürcheri</i> , Stamm III aus Tierspital	* ++	4,45	2,67	1,67

* Sporen alle länglichoval. ** Sporen teils rundlichoval, teils rundlich.

+ Mycel grau, 1–2 cm hoch. ++ Mycel reinweiss, 4 cm hoch.

§ gilt nur für die rundlichovalen Sporen (rundliche Sporen nicht miteinbezogen).

§§ rundlichovale und rundliche Sporen berücksichtigt, Quotient daher etwas kleiner.

²⁾ Unterschiede in Form und Grösse der Sporen während eines Jahres nach mehreren Ueberimpfungen konstant.

Nährboden: 20 g Glukose, 1 g Asparagin, 1,5 g KH_2PO_4 , 0,5 g MgSO_4 , 20 g Agar, Extrakt von 10 g Trockenhefe, 1000 ccm H_2O dest.

Auf Grund von Grösse und Form der Sporen ist wahrscheinlich der Stamm *Absidia ramosa* aus Baarn in die Art *Absidia Lichtheimi* einzuordnen.

Absidia ramosa Var. *Rasti* wurde zum erstenmal von Lindt (1886) als *Mucor ramosus* Lindt beschrieben. Lindt ist aber nicht als der einzige Entdecker anzusehen; denn dieser Pilz wurde ihm von Lichtheim, Prof. am Laboratorium der medizinischen Klinik des Inselspitals in Bern zur Untersuchung vorgewiesen.

Absidia Lichtheimi ist von Lichtheim entdeckt worden und wurde von Cohn als *Mucor corymbifer* beschrieben (Lichtheim 1884).

Absidia Lichtheimi ergibt auf Agarplattenkulturen anfänglich ein schneeweisses, zartes Mycel. Bei Eintritt der Sporangienbildung (je nach Temperatur nach 2 bis 5 Tagen) entwickelt sich reichlich Luftmycel, das sich etwa $\frac{1}{2}$ cm über die Platte erhebt. Die Sporangienträger zweigen sich von den auf dem Nährboden kriechenden Hyphen oder auch von Lufthyphen ab und wachsen rasch zu 1 bis 2 cm Länge an. An der Spitze verzweigen sie sich monopodial, sympodial oder doldentraubig. Die kleinen, schwarzgrauen, birnförmigen Sporangien sitzen auf einer trichterförmigen Erweiterung des Sporangienträgers (Apophyse) und geben den Kulturen eine graue Farbe.

Beide Pilze, *Absidia ramosa* und *Lichtheimi*, erwiesen sich als pathogen für Kaninchen, die nach wenigen Tagen an innerer Verpilzung starben. Mit Vorliebe wurden die Nieren befallen (Lichtheim 1884 und Lindt 1886). Siebenmann (1888) stellte diese Pilze bei Schimmelmikosen des menschlichen Ohres, Plum (1932) bei krankhaftem Abortus des Rindes fest. Nach Brumpt (1936) werden beide Arten auch in der menschlichen Lunge, ähnliche Symptome wie Tuberkulose hervorrufend, und in andern Organen gefunden.

Ueber die Häufigkeit und die Art des Vorkommens ist sehr wenig bekannt. Auf jeden Fall wachsen diese Pilze meistens als Saprophyten und nicht als Parasiten. Lendner konnte die beiden Varietäten *Rasti* und *Zürcheri* von *Absidia ramosa* aus Kulturen, die mit Wohnungsstaub geimpft worden waren, isolieren. Von Hagem (1910) isolierte *Absidia ramosa* und Schenker, Chemiker an der Versuchsanstalt in Liebefeld, *Absidia Lichtheimi* aus erhitztem, gä-

rendem Heu.³⁾ Angesichts der Häufigkeit des Vorkommens von Sporen im Rindermundspeichel ist es wahrscheinlich, dass diese thermophilen, unter 20 Grad nicht mehr wachsenden Pilze, häufiger auf gärendem Heu vorkommen als bekannt ist.

Fragestellung

Schon früh wurde beobachtet, dass gewisse pflanzliche Organismen auf synthetischen Nährlösungen ohne Zusatz geringer Mengen natürlicher organischer Substanzen, die später als Vitamine identifiziert werden konnten, nicht gedeihen. Am besten bekannt ist die Wirkung von Aneurin und seinen Komponenten Pyrimidin und Thiazol. Von den zahlreichen untersuchten Organismen soll hier nur die Mucorineengattung *Absidia* berücksichtigt werden (Tab. 3). Merkwürdigerweise benötigen die meisten Arten, was übrigens für die gesamte Familie der Mucorineen gilt, trotz der absoluten Heterotrophie, d. h. der Unfähigkeit, auf anorganischen Nährlösungen zu gedeihen, das Aneurin nicht, sind also aneurinauxoautotroph. Da

Tabelle 3.

Das Verhalten der Mucorineengattung *Absidia* zum Aneurin und seinen Komponenten Pyrimidin und Thiazol (nach Schopfer 1937 b, 1938 b, c und 1939).

	Kontrolle	P	T	P + T	B ₁
<i>Absidia glauca</i> Hagem	++				++
<i>Absidia orchidis</i> Hagem	++				++
<i>Absidia repens</i> v. Thiegem	++				++
<i>Absidia coerulea</i> Bainier	++				++
<i>Absidia ramosa</i> (Lindt) Lendner*	—	+	—	++	++

* Wie bereits im Kapitel Systematik und Oekologie gezeigt worden ist, handelt es sich wahrscheinlich um *Absidia Lichtheimi*.

Mycelextrakte auf den Aneurin (bzw. Pyrimidin und Thiazol) bedürftigen *Phycomyces Blakesleanus* fördernd wirken, muss eine Synthesefähigkeit für Aneurin (bzw. P + T) angenommen werden, die bei *Absidia Lichtheimi* verloren gegangen ist (Schopfer 1935). Pyrimidin und Thiazol ersetzen bei *Absidia Lichtheimi* das Aneurin vollständig. Pyrimidin allein ergibt ein Wachstum von

³⁾ Ich möchte Herrn P. Schenker bestens für diese mündliche Mitteilung danken.

etwa 10 %. Weitere physiologische Untersuchungen über *Absidia Lichtheimi* sind bis dahin nicht unternommen worden.

Aus sehr vielen Arbeiten, namentlich denjenigen von Raulin, Steinberg, Hoagland, Utiger, Lindeberg usw., auf die später eingetreten werden soll, ging die grosse Bedeutung der Spurenelemente für das Wachstum gewisser Pilze hervor.

Auf Grund der bisherigen Untersuchungen ergaben sich folgende Problemstellungen:

1. Feststellung der allgemeinen Ernährungsbedingungen, über die bis dahin noch nichts veröffentlicht wurde.

2. Prüfung des Vitamins B₁, seiner Komponenten und Derivate, wobei besonders auch das beschränkte Wachstum auf Pyrimidin allein abgeklärt werden sollte.

3. Der Einfluss der Spurenelemente auf das Gedeihen des Pilzes.

I. Allgemeine Ernährungsbedingungen

A. Die Nährlösungen

1. Ausgegangen wurde von der nach Schopfer abgeänderten Coonschen Nährlösung:

Glukose purissimum	20 g	
Asparagin	1 g	
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	0,5 g	pH nach Autoklavieren
KH ₂ PO ₄	1,5 g	4,4 bis 4,6
Aneurin	120 γ	
Aqua dest.	1000 ccm	

Ausserdem wurden mit Vorteil folgende Nährlösungen verwendet:

2. Nährlösung nach Lindeberg:

Glukose purissimum	20 g	
Ammoniumtartrat	5 g	
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	0,5 g	pH nach Autoklavieren
KH ₂ PO ₄	1 g	5,3 bis 5,5
Fe als FeCl ₃	1 mg	
Zn als ZnSO ₄	1 mg	
Mn als MnCl ₂	2,7 mg	
Ca als CaCl ₂	20 mg	
Aneurin	120 γ	
Aqua dest.	1000 ccm	

3. Neue Nährlösung :

Glukose purissimum	20 g
KNO ₃ purissimum	1,36 g
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	0,5 g
KH ₂ PO ₄	1,5 g
Fe als FeCl ₃	200 γ
Zn als ZnSO ₄	140 γ
Mn als MnSO ₄	20 γ
Cu als CuSO ₄	40 γ
Mo als NH ₄ -molybdat	10 γ
Aneurin	120 γ
Aqua dest.	1000 ccm

Mit dieser erheblich billigeren Nährlösung werden ungefähr dieselben Trockengewichte wie mit der nach Schopfer veränderten Coonschen Nährlösung erreicht.

Alle Versuche wurden in Erlenmeyerkolben aus Jenaerglas von 150 ccm Inhalt ausgeführt, die ich mit 25 ccm Nährlösung beschickte. Als Pfropfen wurde reinste Spitalwatte verwendet. Die Sterilisation der Nährlösung erfolgte während 15 bis 20 Minuten in einem Dampfautoklaven bei 120 °C.

Wo nichts anderes bemerkt, sind die Versuche bei 28 °C mit der nach Schopfer abgeänderten Coonschen Nährlösung in Dunkelheit durchgeführt worden. Die Trockengewichte entsprechen in der Regel einem Mittelwert aus sechs Messungen. Die Abkürzung T. G. in Abbildungen, Tabellen und Text bedeutet Trockengewicht.

B. Die Kohlenstoffquellen

Einfluss der Glukosekonzentration auf das Wachstum.

In der abgeänderten Coonschen Nährlösung wird die Glukosekonzentration unter Konstanthaltung aller übrigen Bedingungen verändert. *Absidia Lichtheimi* entwickelt sich bei Konzentrationen von 2 bis 8 % optimal. Mit höheren Konzentrationen tritt eine zunehmende Hemmung auf, die bei 25 % Glukose rund 40 % erreicht. In einem frühen Entwicklungszustand sind die Verhältnisse ähnlich. Jedoch ist das Optimum leicht nach höheren Konzentrationen verschoben, die Hemmung aber bei weiterem Anstieg verstärkt (bei 25 % Glukose rund 75 %).

Absidia Lichtheimi ist gegen höhere Glukosekonzentrationen be-

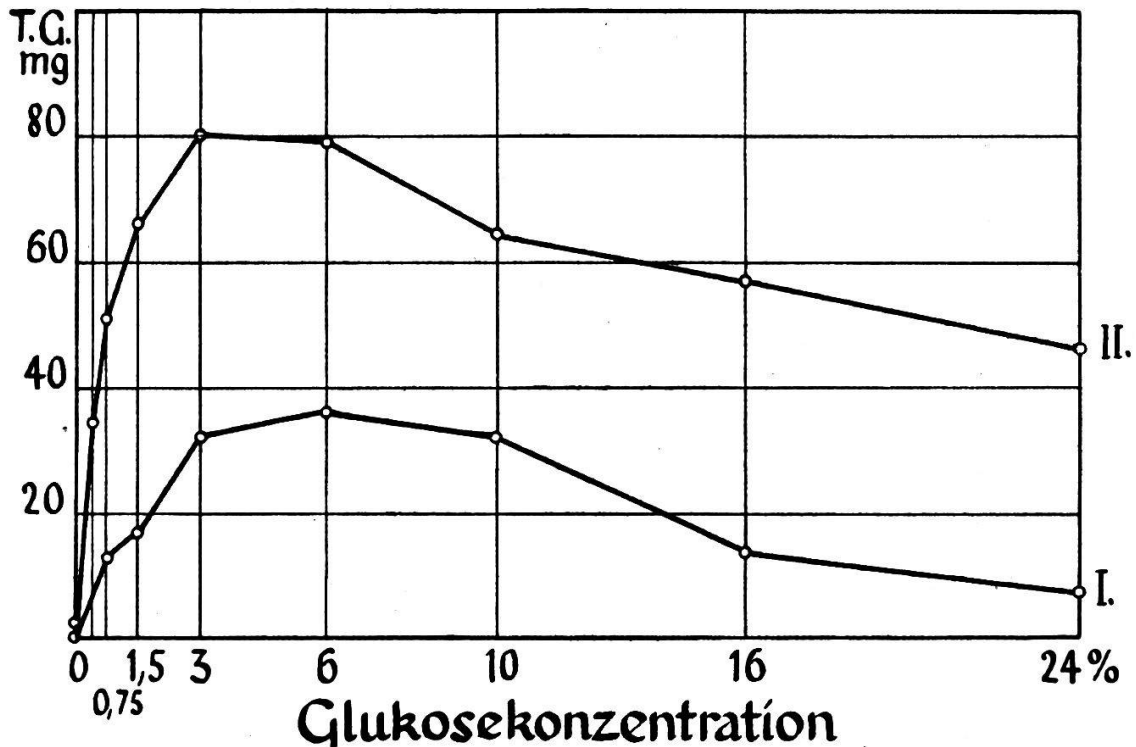


Abbildung 1.

Der Einfluss der Glukosekonzentration auf das Wachstum von *Absidia Lichtheimi*. I: nach 5 Tagen. II: nach 10 Tagen.

deutend weniger empfindlich als *Mucor Ramannianus*, der mit 25 % Glukose überhaupt nicht mehr gedeiht (Müller 1941).

Absidia Lichtheimi ist nicht imstande, ihren Bedarf an organischem Kohlenstoff aus dem Asparagin zu decken. Bei sehr niederen Glukosekonzentrationen scheint aber das Glukosedefizit durch Asparagin ersetzt werden zu können, so dass also Asparagin unter diesen Bedingungen spurenweise als Kohlenstoffquelle dient (Tabelle 4). Müller (1941) stellte mit *Mucor Ramannianus* dasselbe fest.

Tabelle 4.

Das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* mit niederen Glukosekonzentrationen (Mittelwerte aus 6 Kulturen).

Asparagin in mg pro 25 ccm	25	25	25	25
Glukose in mg pro 25 ccm	20,8	5,2	2,6	0
Trockengewicht (T. G.)	14,0	8,0	6,0	2,5
Notwendige Glukose in mg bei einem ökonomischen Koeffizienten von 0,4	35	20	15	6,25
Glukosedefizit	14,2	14,8	12,4	6,25

Andere Kohlenstoffquellen.

Die Wirksamkeit verschiedener Kohlenstoffquellen wurde mit Asparagin als Stickstoffquelle geprüft. Zur kohlenstofffreien Nährlösung wurden 3 % Glukose oder eine andere Kohlenstoffquelle mit demselben Kohlenstoffgehalt zugegeben. Alle Kohlenstoffquellen, bei denen durch das gemeinsame Sterilisieren mit der schwach sauren Nährlösung ein Abbau befürchtet werden musste, wurden getrennt sterilisiert und danach steril zugegeben. Die Versuchsdauer betrug acht Tage. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 zusammen gestellt. Das mit Aneurinzusatz und 3 % Glukose erhaltene T. G. wurde als 100 % angenommen und alle übrigen T. G. entsprechend umgerechnet. *Absidia Lichtheimi* kann wie die meisten andern Mucorineen Mono- und Disaccharide, von den Polysacchariden Stärke und Dextrin, sowie mehrwertige Alkohole (Sorbit und Mannit) gut ausnutzen. Die höchsten T. G. wurden mit Glukose, Maltose, Mannose, Fruktose, Stärke und Mannit erreicht. Als Kohlenstoffquelle für Wirkstoffuntersuchungen kommt vor allem die genügend rein erhältliche Glukose in Betracht, die ohne Aneurin kein Wachstum ermöglicht. Glukoside und organische Säuren können nicht oder schlecht als Kohlenstoffquellen verwendet werden. Es ist interessant festzustellen, dass *Absidia Lichtheimi* auf Milchsäure ein schwaches Wachstum zeigt. Milchsäure als Stoffwechselprodukt des Tieres wird teilweise durch die Nieren ausgeschieden. Da *Absidia Lichtheimi* parasitisch mit Vorliebe in den Nieren lebt, ist es möglich, dass die Milchsäure bei der parasitischen Lebensweise eine Rolle als Kohlenstoffquelle spielen könnte. Die verhältnismässig gute Ausnutzungsfähigkeit von Pektin und Lichenin, einer allgemein verbreiteten Reservesubstanz der Zelle, als Kohlenstoffquelle ist vielleicht bei der saprophytischen Lebensweise auf gärendem Heu von einer gewissen Bedeutung.

Zum Schluss sei noch erwähnt, dass *Absidia Lichtheimi* im Laufe der Entwicklung Zucker in Aerobiose nicht vergärt, was schon von Lichtheim (zitiert nach Lindt 1886) festgestellt wurde.⁴⁾

⁴⁾ Fräulein Guilloud, Laborantin, sei für die während eines Zeitversuches mehrfach durchgeführten Prüfungen auf Alkohol bestens gedankt.

Tabelle 5.

Die Ausnützbarkeit der verschiedenen Kohlenstoffquellen in Gegenwart von Asparagin durch Absidia Lichtheimi.

Kohlenstoffquelle	T. G. mit Aneurin	T. G. ohne Aneurin
Monosaccharide		
Pentosen:		
Arabinose Schuchhardt	69 %	0,7 %
l-Xylose Hoffmann la Roche	0	0
d-Xylose Hoffmann la Roche	79	0,7
Hexosen:		
d-Glukose Siegfried	100	0,7
d-Mannose Hoffmann la Roche	93	4
d-Galaktose	73	5
d-Fruktose Kahlbaum	85	0,7
Disaccharide		
Maltose Kahlbaum	101	38
Laktose Drug House Ltd.	69	0,7
Saccharose	61	1,3
Polysaccharide		
Weizenstärke	86	65
Cellulose	0	0
Inulin Kahlbaum	9	8
Dextrin Merck	55	0,7
Reinpektin H Sandoz	27	1,3
Lichenin Siegfried	37	28
Lignin Schuchhardt	wenig Mycel	0
Xylan Schuchhardt	6	4
Glukoside		
Salicin Schuchhardt	9	Spur
Amygdalin	8	9
Phloridzin	3,7	3,7
Alkohole		
Glycerin	7	0,7
d-Sorbit Hoffmann la Roche	74	0,7
Mannit	87	0,7
Organische Säuren *		
Weinsäure pH 3,2	Spur	Spur
Citronensäure pH 3,8	4,4	Spur
Milchsäure pH 3,8	9	0,7

* Mit sekundärem Natriumphosphat gepuffert.

C. Die Stickstoffquellen

Optimale Asparaginkonzentration bei 2 % Glukose.

Die Ergebnisse sind aus Abbildung 2 ersichtlich. Die optimale Ausnützung des Asparagins erfolgt bei einer Konzentration von 1 ‰, wie sie bis dahin in der abgeänderten Coonschen Nährlösung angewendet worden ist. In einem späteren Entwicklungszustand steigen aber die T. G. weiterhin verlangsamt an, und auch bei 8 ‰ ist die Gewichtszunahme noch nicht zum Stillstand gekommen. Mit höheren Asparagindosen, 15 ‰ und mehr, würde wahrscheinlich eine Verminderung des T. G. eingetreten sein.

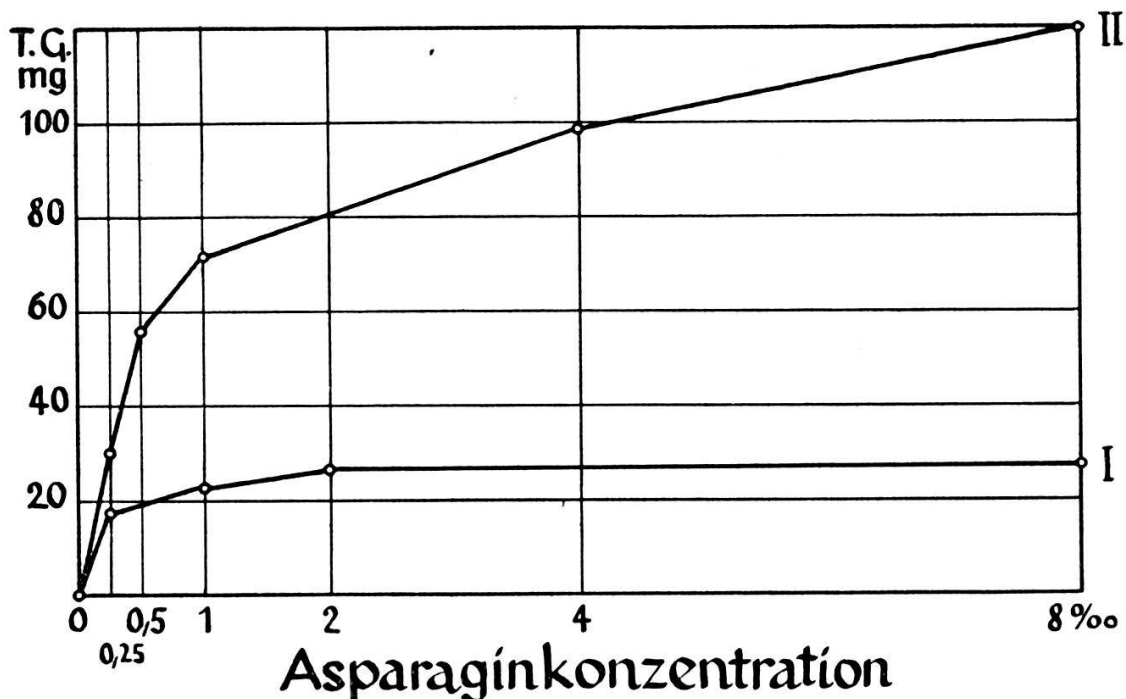


Abbildung 2.

Der Einfluss der Asparaginkonzentration auf das Wachstum von *Absidia Lichtheimi*. I: nach 5 Tagen. II: nach 10 Tagen.

Optimales C/N-Verhältnis mit Glukose und Asparagin.

Die Versuchsdauer betrug neun Tage. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 zusammengestellt.

Mit niederen Asparagindosen ist die Wirkung steigender Glukosemengen wenig ausgeprägt, da Asparagin als beschränkender Faktor wirkt. Mit hohen Asparagindosen dagegen steigen die T. G. mit zunehmendem Glukosegehalt stark an. Mit der Zunahme der

Tabelle 6.

Das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* in Abhängigkeit vom Glukose/Asparagin-Verhältnis (Schachbrettversuch nach Schopfer).

Die eingeklammerten Zahlen geben das C/N-Verhältnis an.

	0 ‰	1/4 ‰	3/4 ‰	2 ‰	6 ‰	16 ‰ Glukose
0 ‰	Spur	0,7 mg	0,8 mg	0,9 mg	0,7 mg	0,7 mg
1/4 ‰	0,8	23 (10)	26 (30)	26 (80)	22 (240)	17 (640)
1/2 ‰	0,8	25 (5)	39 (15)	48 (40)	37 (120)	31 (320)
1 ‰	1,6	25 (2,5)	46 (7,5)	80 (20)	73 (60)	60 (160)
3 ‰	2,4	28 (0,8)	55 (2,5)	106 (7)	164 (20)	136 (53,5)
8 ‰ Asparagin	0,6	28 (0,3)	77 (1)	120 (2,5)	173 (7,5)	140 (20)

Glukosekonzentration steigt die optimale Asparaginkonzentration an. Es besteht jedoch keine strenge Proportionalität. Das optimale C/N-Verhältnis schwankt zwischen etwa 40 und 7,5. Das höchste T.G. wird mit 8 ‰ Asparagin und 6 ‰ Glukose erhalten. Es ist etwa doppelt so gross wie dasjenige, welches mit der normalen abgeänderten Coonschen Nährlösung erreicht wird.

A n d e r e S t i c k s t o f f q u e l l e n .

Die Versuchsdauer betrug elf Tage. In einer ersten Reihe wurden die zu prüfenden Substanzen in der molekularen Konzentration einer 2 ‰igen Asparaginlösung verwendet. In einer zweiten, gleichzeitig angesetzten Reihe erhielt jeder Erlenmeyerkolben eine einer 2 ‰igen Asparaginlösung entsprechende Stickstoffmenge. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 zusammengestellt.

Das mit einer 2 ‰igen Asparaginkonzentration erhaltene T.G. von 101 mg wurde als 100 ‰ angenommen und die übrigen T.G. entsprechend umgerechnet. *Absidia Lichtheimi* vermag sowohl organische als auch anorganische Stickstoffverbindungen (einschliesslich Nitrate) zu verwerten. Sie verhält sich hierbei ähnlich wie

Tabelle 7.

Wachstum von Absidia Lichtheimi auf verschiedenen Stickstoffquellen in Gegenwart von Glukose.

Substanz	Gleiche N-Menge wie 2‰ Asparagin T. G. in ‰	Gleiche molekulare Konz. wie 2‰ As- paragin. T. G. in ‰
Nitrate		
Calciumnitrat	63 ‰	63 ‰
Kaliumnitrat	53	50
Ammoniumverbindungen		
Ammoniumhydroxyd	49	53
Ammoniumchlorid	34	35
Ammoniumsulfat	37	37
Ammoniumkarbonat	66	66
Ammoniumnitrat	48	48
Ammoniumoxalat	67	67
Ammoniumcitrat	87	87
Ammoniumacetat	50	64
Ammoniumtartrat	77	77
Amide		
Harnstoff	56	56
Asparagin	100	100
Amine		
Trymethylaminchlorhydrat	1	1
Hydroxylaminhydrochlorid	0	0
Diphenylamin	0	0
Aminosäuren		
Glykokoll	68	74
Peptone und Eiweisse		
Pepton (Rhone-Poulenc)	98	—
Fibrin	*	—
Volleipulver	62	—
Organische N-haltige Säuren		
Harnsäure	58	77

* Auf Fibrin ist ein gutes Wachstum festzustellen. Das Mycel kann aber nicht vom Fibrin getrennt und somit nicht gewogen werden.

Mucor Ramannianus (Müller 1941) und *Mucor racemosus* (Ritter 1909 und 1911) und bildet gegenüber andern Mucorineen wie z. B. *Phycomyces Blakesleeanus* (Schopfer 1934), *Rhizopus nigricans*, *Mucor Mucedo* und *Thamnidium elegans* (Ritter 1909), die anorganische Stickstoffverbindungen in Nitratform nur schwer oder nicht assimilieren können, eine Ausnahme. Auch die Aspergillen *Aspergillus niger* und *glaucus* und *Penicilliumarten* verhalten sich wie *Absidia Lichtheimi*. Eine gute Ausnutzung von anorganischen Stickstoffquellen durch *Absidia Lichtheimi* war nicht ohne weiteres zu erwarten, da es sich um einen Pilz handelt, der auch parasitisch leben kann. Harnstoff und Harnsäure erweisen sich als verhältnismässig gute Stickstoffquellen und könnten bei der parasitischen Lebensweise in den Nieren eine Rolle spielen.

D. Der Einfluss der $MgSO_4$ - und der KH_2PO_4 -Konzentration

Die Ergebnisse sind aus den Abbildungen 3 und 4 ersichtlich.

Die in der abgeänderten Coonschen Nährlösung angewandten $MgSO_4$ - und KH_2PO_4 -Konzentrationen wirken optimal. Nur in frü-

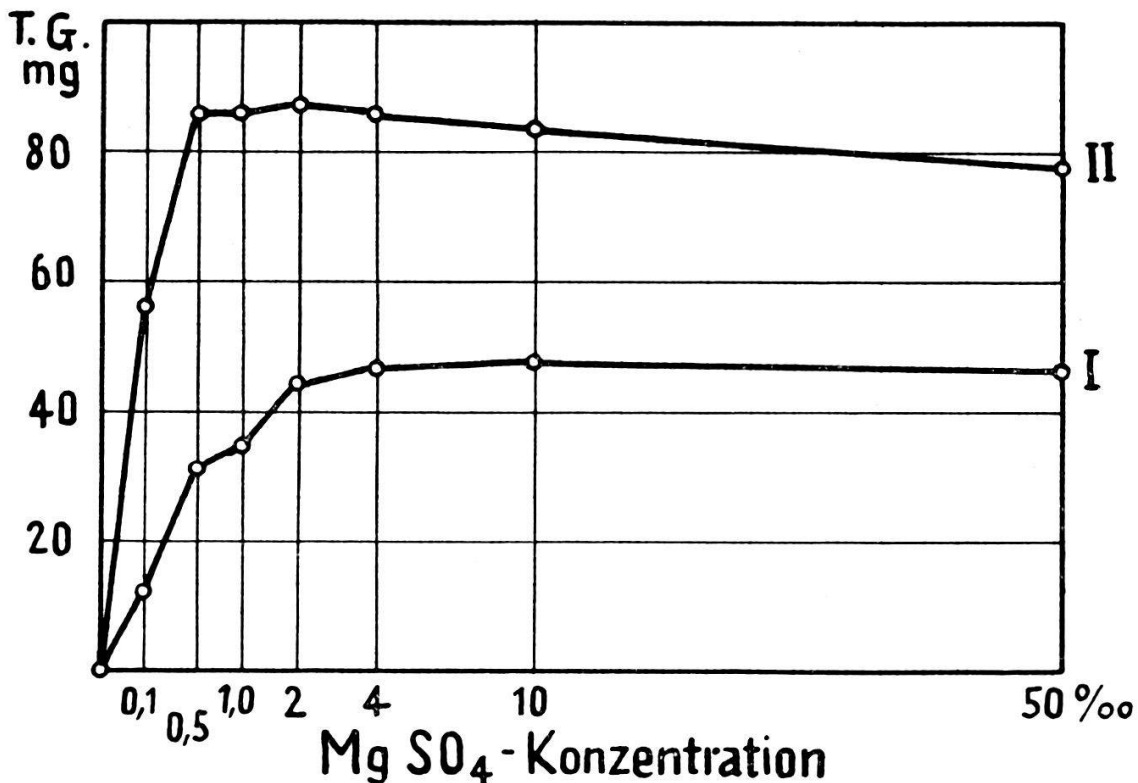


Abbildung 3.

Der Einfluss der $MgSO_4$ -Konzentration auf das Wachstum von *Absidia Lichtheimi*. I: nach 5 Tagen. II: nach 12 Tagen.

hen Entwicklungszuständen liegt das Optimum etwas höher. Eine 100fach optimale Dosis von MgSO_4 wirkt nur schwach, von KH_2PO_4 stärker hemmend.

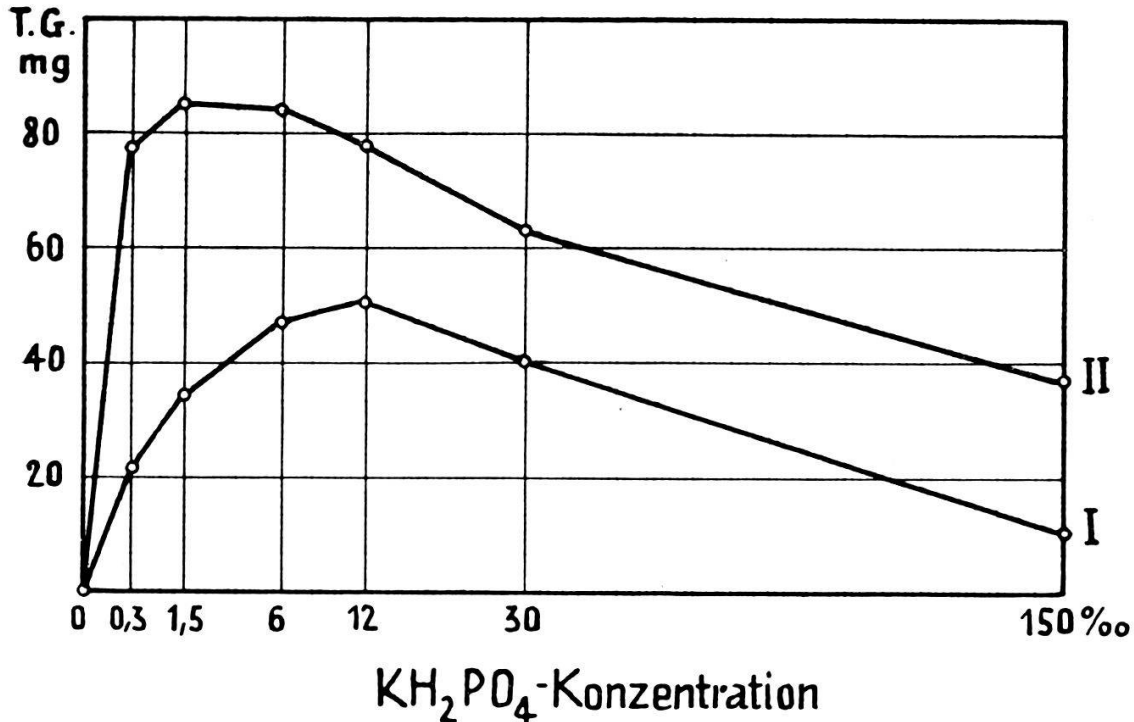


Abbildung 4.

Der Einfluss der KH_2PO_4 -Konzentration auf das Wachstum von *Absidia Lichtheimi*. I: nach 5 Tagen. II: nach 11 Tagen.

E. Der Einfluss der Temperatur

Abbildung 5 zeigt, dass es sich bei *Absidia Lichtheimi* um einen ausgesprochen thermophilen Pilz handelt. Die obere Temperaturgrenze liegt bei etwa 46°C . Bei 42°C ist noch keine Hemmung festzustellen. Bei 45° entwickelt sich wenig, knöllchenförmig zerfallendes Mycel. Wird die Temperatur auf 40° erniedrigt, so setzt ein normales Wachstum ein. Die Lebensfähigkeit des Pilzes ist also durch die vorübergehende Temperaturerhöhung nicht beeinträchtigt worden. Unterhalb 20° hört das Wachstum praktisch auf. Das Temperaturoptimum entspricht der Körpertemperatur der Warmblüter und scheint darauf hinzuweisen, dass *Absidia Lichtheimi* als tier- und menschenpathogener Pilz eine gewisse Bedeutung haben könnte.



Abbildung 5.

Absidia Lichtheimi: Abhängigkeit des Wachstums von der Temperatur.
I: 17° C. II: 28° C. III: 40° C.

F. Der Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration und Veränderung derselben im Laufe der Entwicklung

Die Abhängigkeit des Wachstums von der Wasserstoffionenkonzentration wurde mit dem Puffer nach Mac Ilvaine, bestehend aus Zitronensäure und sekundärem Natriumphosphat, untersucht. Pufferlösungen und abgeänderte Coonsche Nährlösung wurden doppelt konzentriert hergestellt und in Mengen von 12,5 ccm in Erlenmeyerkolben abgefüllt und sterilisiert. Danach wurden die Lösungen über der Flamme zusammenschüttet und geimpft. Die Bestimmung des pH erfolgte kolorimetrisch. Das optimale pH liegt in frühen Entwicklungszuständen zwischen 5 und 7, in späten zwischen 3,8 und 8,25 (Abb. 6). Abbildung 7 zeigt, dass die Pufferung der Nährlösung nur einige Tage stabil bleibt. Danach erfahren die alkalischen Medien eine leichte Ansäuerung, die sauren eine beträchtliche Alkalisierung. Diese könnte entweder auf der Hydrolyse eines Salzes der Nährlösung und der ungleichen Aufnahme der entstandenen Ionen oder auf der Bildung von alkalischen Substanzen durch den Pilz, z. B. Ammoniak, beruhen. Am Ende des

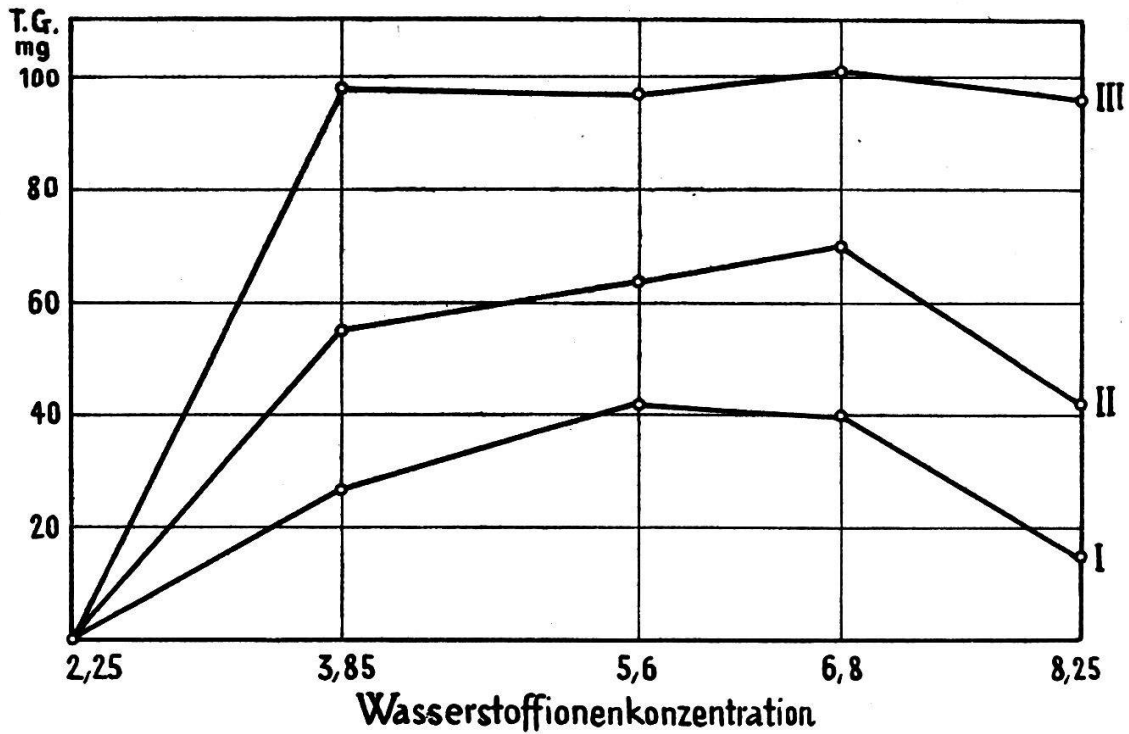


Abbildung 6.

Absidia Lichtheimi: Abhängigkeit des Wachstums von der Wasserstoffionenkonzentration. I: nach 3 Tagen. II: nach 5 Tagen. III. nach 16 Tagen.

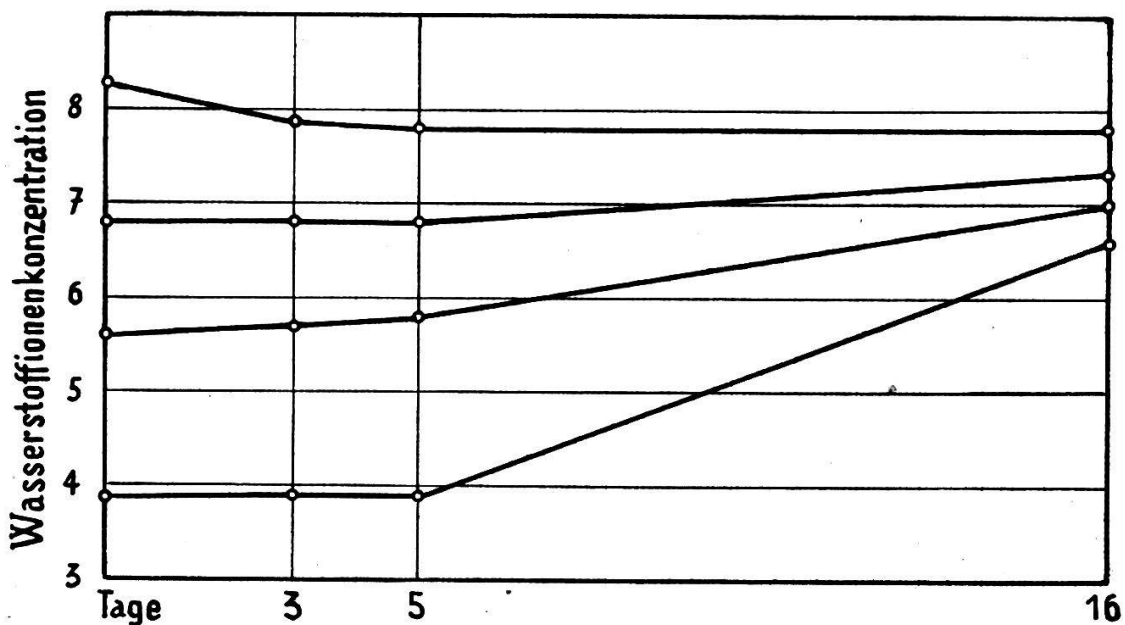


Abbildung 7.

Veränderung des pH von Pufferlösungen durch *Absidia Lichtheimi* im Laufe der Entwicklung.

Versuchs schwankt das pH überall zwischen etwa 6,5 und 7,5. Der weite optimale pH-Bereich in späten Entwicklungsstadien ist also nur scheinbar. Jedoch ist auch bei kurzer und mittlerer Versuchsdauer, wo die Stabilität der Pufferlösung erhalten bleibt, der pH-Bereich, der ein gutes Wachstum ermöglicht, ziemlich gross (zwischen pH 3,8 und 7). Das im Vergleich zu andern Mucorineen ziemlich hohe pH-Optimum und die Fähigkeit des Gedeihens auf schwach alkalischen Nährlösungen scheint mit der fakultativen parasitischen Lebensweise in Einklang zu stehen. Der pH-Bereich des menschlichen Harns (pH 5—7) entspricht dem Optimum. Auch das pH des Blutes schliesst ein Wachstum nicht aus.

Die Veränderung des pH der ungepufferten abgeänderten Coonschen Nährlösung ist aus Abbildung 8 ersichtlich. Im Gegensatz zu der gepufferten Nährlösung ist vor allem in der Hauptwachstumsperiode ein ziemlich starkes Absinken des pH bis auf 3,6 festzustellen. Versuche, die bei 40°C durchgeführt wurden, verliefen ähnlich. Das pH sank jedoch nur auf etwa 3,8 ab.

Auch die Titrationsazidität der ungepufferten Nährlösung wurde geprüft. Die Ergebnisse waren aber nicht eindeutig. Je nach dem verwendeten Indikator schien *Absidia Lichtheimi* bald etwas Lauge, bald etwas Säure zu bilden. Auf jeden Fall steht fest, dass es sich bei *Absidia Lichtheimi* nicht um einen Säurebildner handelt.

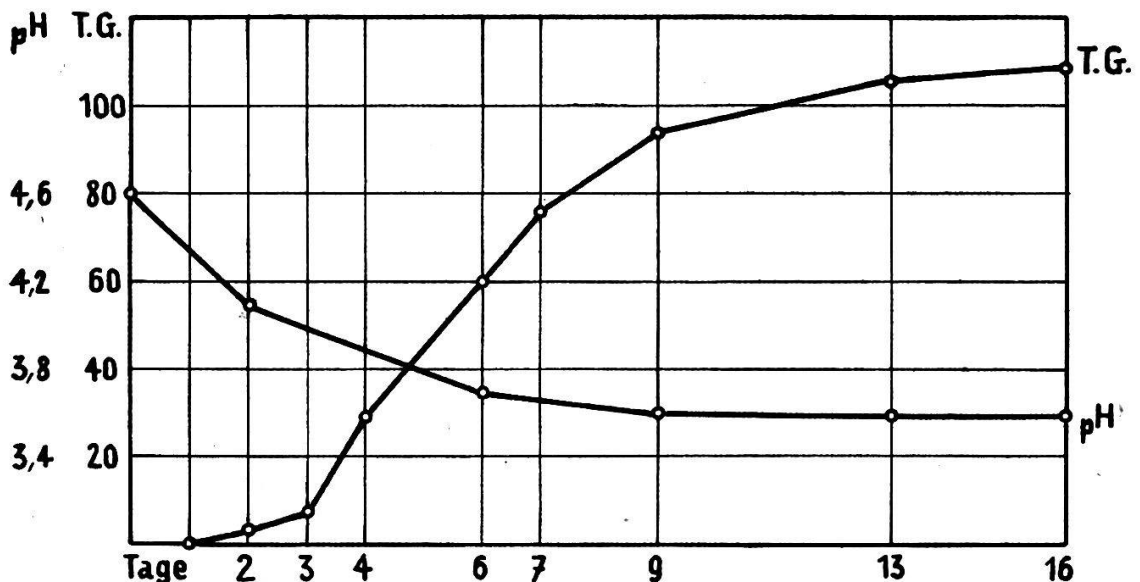


Abbildung 8.

Absidia Lichtheimi: Veränderung des pH der ungepufferten Coonschen Nährlösung im Laufe der Zeit.

G. Der Einfluss der Impfstärke

Zur Bereitung der Sporensuspension verwendete ich Reagensglaskulturen. Mit einer Platinnadel wurde etwas Luftmycel herausgenommen, in etwa 30 ccm sterilem, destilliertem Wasser gespült und danach wieder entfernt. Von dieser Sporensuspension wurden normalerweise 1 bis 2 Tropfen geimpft. Für den Impfstärkeversuch stellte ich noch eine zweite Sporensuspension her, bei der das gesamte Luft- und Substratmycel in 30 ccm sterilem, destilliertem Wasser gespült wurden. Der Gehalt an Sporen wurde mit einer Zählkammer, wie sie auch zur Bestimmung der roten Blutkörperchen dient, ermittelt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 zusammengestellt. Bei der Nährlösung mit Aneurin wird das T. G. nur sehr wenig von der Impfstärke beeinflusst. In frühen Entwicklungszeiten ist der Ertrag mit einer geringen Sporenzahl etwas kleiner; in spätern erfolgt ein Ausgleich, weil nicht mehr die Sporenzahl, sondern der vorhandene Raum und der Energieinhalt der Nährlösung den beschränkenden Faktor bilden.

Tabelle 8.
Einfluss der Impfstärke.

Anzahl Sporen pro Erlenmeyer	mit Aneurin		Kontrollen ohne Aneurin	
	5 Tage	12 Tage	5 Tage	12 Tage
32 000 *	23 mg T. G.	85 mg T. G.	2,8 mg T. G.	2,9 mg T. G.
192 000 *	40	84	2,6	3,1
408 000 **	35	93	3,1	3,3
2 448 000 **	34	91	4,9	4,8

* Normale Sporensuspension. ** Zweite Sporensuspension.

Die Kontrollen ohne Wirkstoff fallen mit einer höheren Sporenzahl wenig grösser aus, weil die Sporen selber etwas Wirkstoff enthalten und ausserdem, besonders nach der zweiten Zubereitungsart der Sporensuspension, kleine Mengen Wirkstoff vom Nährboden der Stammkultur in die Impfflüssigkeit gelangen.

H. Die Widerstandsfähigkeit der Sporen gegenüber Desinfektionsmitteln

Tabelle 9 zeigt die Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln. In der Regel wurden diese nach der Sterilisation der Nährlösung un-

sterilisiert (von einem Desinfektionsmittel ist Sterilität vorauszusetzen!) in steigenden Konzentrationen zugegeben.

Tabelle 9.

Die Wirksamkeit verschiedener Desinfektionsmittel auf Absidia Lichtheimi.

Desinfektionsmittel	Menge in mg pro 25 ccm Nährlösung	
	Hemmung mindestens 25 %	vollständige Unter- drückung des Wachstums
Formalin	2,0 mg	10 mg
Alkohol 95 %	1200	2500
Sansilla-Gurgelwasser konzentriert	—	600
Borsäure	30	250
Tanninsäure	—	25
Na ₂ CO ₃ wasserfrei	100	600
KClO ₃	—	250 *
KMnO ₄	0,25	8
HgCl ₂	—	0,25
NiCl ₂ · 6 H ₂ O	0,14	1,4
H ₂ O ₂	2,5	10
Jod	0,1	0,5

* 95 % Hemmung.

Es zeigt sich, dass vor allem Schwermetallionen (Ni und Hg), starke Oxydationsmittel (Jod, KMnO₄ und H₂O₂), sowie Tanninsäure und der in jeder Hinsicht aktive Formaldehyd eine hohe Wirksamkeit aufweisen. Schwächere Oxydationsmittel (KClO₃), sowie Borsäure, Na₂CO₃ und Alkohol unterbinden das Wachstum erst in grösseren Dosen vollständig. Die Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels hängt primär vom Permeierungsvermögen und der Adsorptionsfähigkeit und erst sekundär von der Art des verwendeten Stoffes ab. Permeierungsvermögen und Adsorptionskraft können stark durch den Zustand der Sporen bedingt sein. Es ist z. B. bekannt, dass der Hydratationsgrad der Sporen bestimmend auf das Eindringen von Alkohol wirkt. Völlig trockene Sporen werden durch absoluten Alkohol nicht oder langsamer abgetötet. In unseren Versuchen wurden alle Desinfektionsmittel in wässriger Lösung mit wässrigen Sporensuspensionen, also bei erhöhter Permeabilitätsfähigkeit geprüft. Untersuchungen über die Einwirkung von Desinfektionsmitteln auf trockene Sporen erfolgten nicht. Es muss

angenommen werden, dass die Desinfektionsmittel entweder auf den kolloidalen Zustand der Zelle einwirken (Ausflockung, z. B. Schwermetallionen, Säuren), Fermente vergiften oder durch Oxydation der organischen Substanz schädigen (Jod, KMnO_4 , H_2O_2).

II. Das Wirkstoffbedürfnis

A. Vitamine

1. Aneurin.

Auf das Aneurinbedürfnis von *Absidia Lichtheimi* ist schon hingewiesen worden. Abbildung 9 zeigt uns, dass Aneurin als beschränkender Faktor wirkt. Ein Teil der Kulturen erhielt von An-

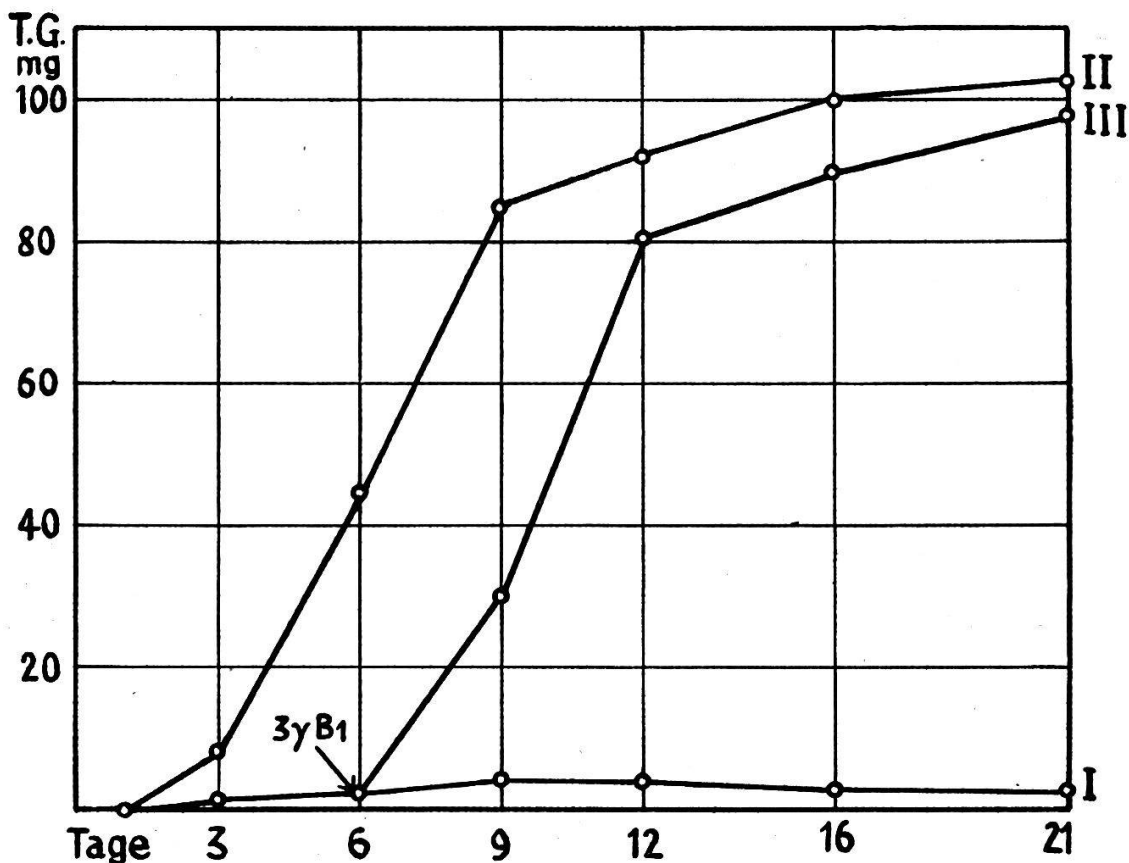


Abbildung 9.

Aneurin als beschränkender Faktor bei *Absidia Lichtheimi*. I: Kontrolle ohne Aneurin. II: 3γ Aneurin pro 25 ccm von Anfang an. III: Aneurinabgabe von 3γ pro 25 ccm am 6. Tag nach der Impfung.

fang an eine Aneuringabe, ein zweiter erst am 6. Tag nach der Impfung und ein dritter als Kontrolle während der ganzen Versuchsdauer kein Aneurin. Die Aneurinzugabe löst sofort ein starkes Wachstum aus, womit bewiesen ist, dass tatsächlich das fehlende Aneurin als beschränkender Faktor gewirkt hat. Am 21. Tag ist der Wachstumsrückstand beinahe eingeholt.

Abbildung 10 zeigt das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* zu verschiedenen Zeiten in Abhängigkeit von der Aneurinkonzentration mit Asparagin als Stickstoffquelle. Die Wachstumsgeschwindigkeit, sowie das maximal erreichbare T.G. fallen bis zu einer gewissen Grenze um so höher aus, je grösser die Aneurinkonzentration ist. Die optimale Aneuringabe liegt in frühen und mittleren Entwicklungszuständen zwischen 1 und 2 γ , in späten bei 0,4 γ pro 25 ccm Nährlösung. Das Optimum verschiebt sich also mit der Zeit leicht nach unten, was im Gegensatz zum Verhalten von *Mucor Ramanni-*

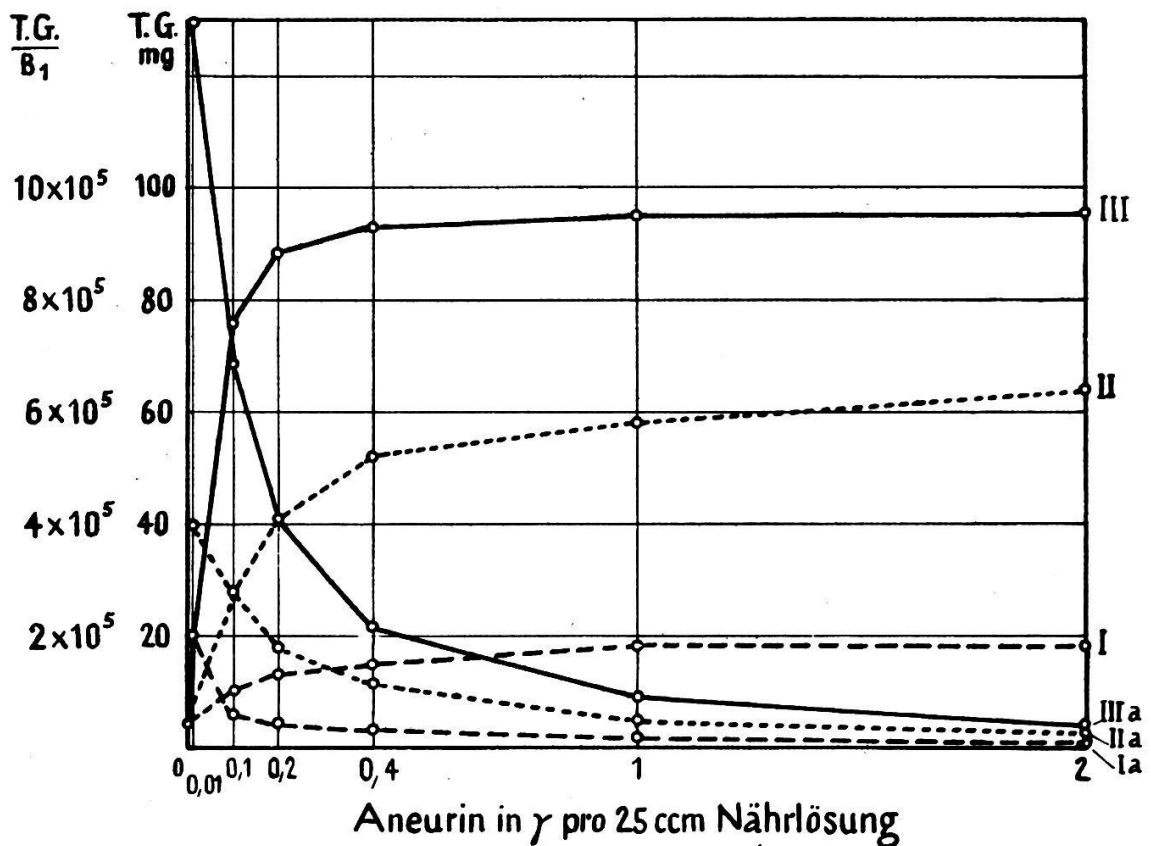


Abbildung 10.

Das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* als Funktion der Aneurinkonzentration. Wachstumskurven: I: nach 4 Tagen. II: nach 7 Tagen. III: nach 14 Tagen. Mycel/Aneurin-Koeffizienten: Ia: nach 4 Tagen. IIa: nach 7 Tagen. IIIa: nach 14 Tagen.

anus (Müller 1941) steht. Erfolgt die Aneuringabe in suboptimalen Dosen, so wirkt Aneurin als beschränkender Faktor. Mit zunehmenden Aneurinmengen steigt das T. G. zuerst rasch, dann allmählich langsamer bis zum Optimum an.

1934 hat Schopfer, um den Wirkungsgrad eines vitaminischen Wachstumsfaktors auszudrücken, eine Art ökonomischen Koeffizienten, erzeugtes Trockengewicht/optimale Vitaminmenge, vorgeschlagen. Die optimale Vitaminmenge ist die bei gegebenen Versuchsbedingungen zur Erzielung der maximalen Mycelmenge erforderliche Wirkstoffdosis.

Für *Phycomyces Blakesleeanus* gibt er (Abb. 11) parallel zu der klassischen Wachstumskurve, die mit verschiedenen Aneurinmengen (stark suboptimal, suboptimal, optimal und supraoptimal) erhaltene Kurve der Mycel-Aneurin-Koeffizienten. Er zeigt, dass mit sehr schwachen Aneurindosen der Koeffizient erhöht ist (zirka $5 \cdot 10^5$), dass er aber im Moment, wo das unter den gegebenen Versuchsbedingungen maximale T. G. erreicht wird, niedriger ist.

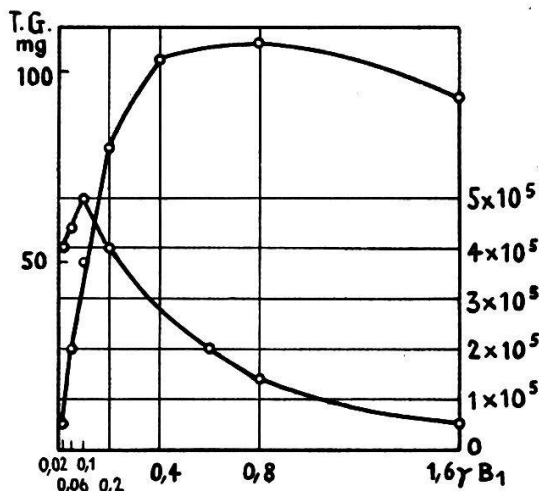


Abbildung 11.

Kurve der Trockengewichte und der Mycel-Aneurin-Koeffizienten als Funktion veränderlicher Vitaminmengen für *Phycomyces Blakesleeanus* (Schopfer 1934).

Robbins und Kavanagh (1938c) bestätigten die Ergebnisse von Schopfer.

Fries (1938) nahm den Begriff des Mycel-Aneurin-Koeffizienten ebenfalls wieder auf, braucht aber nur Koeffizienten, die sehr niedrigen Aneurindosen entsprechen. Für *Phycomyces Blakesleeanus* gibt er Werte, die zwischen 8 und $10 \cdot 10^5$ schwanken. Er bestimmt die Koeffizienten auch für verschiedene andere Pilze (Asco- und Basidiomyceten) und gibt Zahlen, die zwischen $2,0 \cdot 10^5$ (*Phytophthora cactorum*) und $28 \cdot 10^5$ (*Trametes serialis*) schwanken. Für denselben Organismus sind die Werte sehr verän-

derlich, so dass in keiner Weise von einer biologischen Konstante gesprochen werden kann.

Lindeberg (1944) vergleicht den Koeffizienten von Fries mit demjenigen von Schopfer. Er stellt fest, dass es bei einem Vitaminkonzentrationsversuch schwer ist, genau anzugeben, wo die Kurve der T.G. horizontal wird, und somit sei die Ermittlung der optimalen Aneurinmenge nach Schopfer bis zu einem gewissen Grade willkürlich. Im weiteren stehe es nicht fest, dass die optimale Vitaminmenge für die Mycelbildung auch verbraucht werde. Vielmehr müsse man annehmen, dass das Aneurin beim sogenannten Optimum nicht vollständig aufgenommen wird, sondern z. T., weil andere Faktoren nicht mehr optimal wirken, in der Nährlösung zurückbleibt. Nach der Ansicht von Lindeberg ist der Koeffizient am zuverlässigsten, wenn die Versuchsbedingungen so gewählt werden, dass das Vitamin maximal wirkt, d. h. mit kleinen Aneurinmengen, bei denen angenommen werden dürfe, dass alle übrigen Faktoren optimal bleiben. Aus diesen Gründen kommt Lindeberg zum Schluss, dass der Koeffizient von Schopfer weniger zuverlässig sei als derjenige von Fries.

Zur Abklärung dieser Frage bestimmte ich für *Absidia Lichtheimi* zu verschiedenen Zeiten (früher, mittlerer und maximaler Entwicklungszustand) die Mycel-Aneurin-Koeffizienten für stark suboptimale, suboptimale, optimale und supraoptimale Aneurinmengen (Abb. 10). Die Kurven der Koeffizienten verlaufen ähnlich wie die von Schopfer für *Phycomyces* gegebene. In frühen Entwicklungszuständen liegen die erhaltenen Werte wesentlich niedriger. Je kleiner die Aneurinmenge ist, desto mehr steigen die Koeffizienten an, um bei unendlicher Verdünnung einem maximalen Wert zuzustreben (bei Schopfer sinkt der Wert für kleine Aneurinmengen wieder unwesentlich). Der Mycel-Aneurin-Koeffizient ist also auch im suboptimalen Bereich nicht konstant, sondern je nach der willkürlich gewählten Vitaminmenge verschieden. Im Gegensatz dazu lässt sich die optimale Aneurindosis und damit der entsprechende Mycel-Aneurin-Koeffizient nach Schopfer durch das Horizontalwerden der Trockengewichtskurve relativ genau bestimmen.

Der zweite Einwand ist hinfällig; denn Schopfer hat nie behauptet, dass die optimale Vitaminmenge tatsächlich auch aufgenommen werde, und dass der für diese Wirkstoffmenge berech-

nete Koeffizient das maximale Wirkungsvermögen des Aneurins ausdrücke.

Abschliessend kann festgestellt werden, dass die beiden, schon 1934 von Schopfer vorgesehenen Koeffizienten, eine verschiedene Bedeutung haben:

Der mit suboptimalen Dosen berechnete Koeffizient ist Ausdruck der Wirksamkeit des Vitamins, wenn der Pilz infolge Vitaminmangels in einem frühen Entwicklungsstadium verharret und die Nährlösung nicht weitgehend verändert worden ist.

Der im Moment der maximalen Entwicklung berechnete Koeffizient ist Ausdruck der Wirksamkeit des Vitamins im Zeitpunkt, wo der Organismus das unter den entsprechenden Versuchsbedingungen maximale Trockengewicht erreicht hat, nachdem die maximal mögliche Vitaminmenge aufgenommen und die Nährlösung tiefgreifend verändert wurde.

Die beiden Koeffizienten sind also konventionell und je nach den Versuchsbedingungen (Art der Nährlösung, Zeit, Vitaminmenge usw.) verschieden. Man darf nicht mehr in sie hineinlegen als sie aussagen können.

Tabelle 10.

Der Einfluss supraoptimaler Aneurinkonzentrationen auf *Absidia Lichtheimi*.
Dauer des Versuchs: 15 Tage.

Aneurin in γ pro 25 ccm	0	0,3	3	15	30	60	120
T. G. in mg	6	63	82	85	84	83	80

Tabelle 10 zeigt, dass stark supraoptimale Vitaminmengen nicht hemmend wirken. Das 300fache der optimalen Dosis hat nur eine unwesentliche, innerhalb der Fehlergrenze liegende Verminderung des T. G. zur Folge. Um sicher zu sein, dass das Aneurin auch unter andern Ernährungsbedingungen als denjenigen der abgeänderten Coonschen Nährlösung nicht als beschränkender Faktor wirkt, setzte ich in der Regel eine schwach supraoptimale Menge (3γ / 25 ccm) zu. Der Wirkstoff wurde mit der schwach sauren Nährlösung sterilisiert. Das Aneurin ist in saurer Lösung ziemlich thermostabil. Selbst wenn eine teilweise Zersetzung in Pyrimidin und Thiazol stattgefunden hätte, würde dies die Ergebnisse nicht beein-

flussen, da Pyrimidin und Thiazol, was noch zu besprechen sein wird, Aneurin vollständig ersetzen können.

In Tabelle 11 sind die Ergebnisse eines vergleichenden Vitaminkonzentrationsversuchs mit *Absidia Lichtheimi* und *Phycomyces Blakesleeanus* zusammengestellt. Die Versuchsdauer betrug 9 $\frac{1}{2}$ Tage, die Temperatur bei *Absidia Lichtheimi* 28 $^{\circ}$ und bei *Phycomyces* zirka 20 $^{\circ}$ C. Die Kontrollen ohne Wirkstoff sind Mittelwerte aus 10, die übrigen T.G. Mittelwerte aus 6 Kulturen. Es sei noch bemerkt, dass für den ganzen Versuch dieselbe, zur gleichen Zeit angesetzte Nährlösung verwendet wurde.

Tabelle 11.

Einwirkung des Aneurins auf *Phycomyces Blakesleeanus* und *Absidia Lichtheimi*.

Aneuringehalt pro 25 ccm	<i>Phycomyces Blakesleeanus</i>	<i>Absidia Lichtheimi</i>
0,0 γ	Spur	0,83 mg T. G.
0,0001	0,92 mg T. G.	3,3
0,001	6,0	5,8
0,01	10,0	11,0
0,05	32	57
0,25	51	79
0,5	61 (Optimum)	80 (Optimum)
1,0	64	85
2,0	65	87

Im Prinzip verhalten sich beide Pilze gleich. Mit zunehmenden Aneurindosen tritt eine Erhöhung des T.G. ein. Mit *Absidia Lichtheimi* fallen aber die entsprechenden Werte höher aus. Das Aneurinoptimum liegt bei beiden Pilzen bei etwa 0,5 γ pro 25 ccm Nährlösung. Auffällig ist das Verhalten von *Absidia Lichtheimi* gegen kleinste Aneurinmengen. Die Kontrollen mit *Phycomyces* sind praktisch 0, obschon hier für die Bereitung der Sporensuspension Luft- und Substratmycel verwendet wurden, also sicher kleine Aneurinmengen aus dem Nährboden der Stammkultur in die Impflüssigkeit gelangten. Für die Herstellung der Sporensuspension von *Absidia Lichtheimi* benützte ich nur sehr wenig Luftmycel. Diese sollte also praktisch wirkstofffrei sein. Trotzdem beträgt die Kontrolle 0,83 mg, in andern Versuchen sogar bis 7 mg. Die verhältnismässig hohen, von Versuch zu Versuch schwankenden Kon-

trollen von *Absidia Lichtheimi* scheinen darauf zu beruhen, dass dieser Pilz auf kleinste Aneurinmengen bedeutend empfindlicher ist als *Phycomyces Blakesleeanus*. Aneurinspuren, die beim Impfen in die Nährlösung gelangen oder beim Waschen der Erlenmeyerkolben zurückbleiben, spielen somit eine grössere Rolle als bei *Phycomyces*. Es wäre auch denkbar, dass der Aneurin Gehalt der *Absidia*-Sporen höher ist als derjenige der *Phycomyces*-Sporen. Doch wurde dies nicht geprüft.

2. Pyrimidin und Thiazol.

a) Normales Pyrimidin und Thiazol.

Unter dem normalen Pyrimidin und Thiazol sind immer die beiden Komponenten des Aneurins, also das 2-methyl-4-amino-5-amino-methyl-pyrimidin (als Chlorid) und das 4-methyl-5- β -oxyäthyl-thiazol verstanden. Das Molekulargewicht des benutzten Aneurins (als Chlorid) betrug 337,3, dasjenige des Pyrimidins (als Chlorid) 211,1 und dasjenige des Thiazols 143,2. Ein γ Aneurin entspricht also 0,626 γ Pyrimidin + 0,425 γ Thiazol.

Da in letzter Zeit öfters Darlegungen über die Entwicklung der bisherigen Kenntnisse von Pyrimidin und Thiazol als Wachstumsfaktoren erschienen sind, die alle notwendigen Literaturangaben enthalten, brauche ich nicht näher darauf einzutreten. Ich verweise auf Schopfer (1939), Müller (1941), Utiger (1942) und Lindeberg (1944).

Als erster stellte Knight (1937 a u. b) an *Staphylococcus aureus* fest, dass die beiden Aneurinkomponenten Pyrimidin und Thiazol in äquimolaren Mengen Aneurin vollständig ersetzen können, was später für zahlreiche andere Organismen bestätigt wurde.

Im Laufe der weiteren Forschung stellte es sich heraus, dass gewisse Organismen nur die eine oder die andere der beiden Komponenten erforderten, so z. B. *Rhodotorula rubra* nur Pyrimidin (Schopfer 1937a, 1938b) und *Mucor Ramannianus* nur Thiazol (Müller und Schopfer 1937, Müller 1941). Es wurde bewiesen, dass jeweilen die fehlende Aneurinkomponente synthetisiert werden konnte.

Eine Gruppe von Organismen zeigte auf Pyrimidin ein gewisses, beschränktes Wachstum, so *Absidia ramosa* (wie in der Einleitung erörtert, handelt es sich wahrscheinlich um die nahe verwandte Art

Absidia Lichtheimi) und *Parasitella simplex* (Schopfer 1937b und 1938b), *Polyporus squamosum* und *Septoria apii* (Schopfer und Blumer 1940), *Marasmius graminum*, *M. chordalis* und *M. epiphyllus* (Lindeberg 1944). Diese Organismen sind als Uebergangsstufe zwischen den Pyrimidin und Thiazol (bzw. Aneurin) und den nur Pyrimidin verlangenden Typen besonders interessant. Sie besitzen offenbar noch eine gewisse, begrenzte Synthesefähigkeit für Thiazol, die das erreichte T.G. bestimmt. Für meine Untersuchungen stellte sich die Frage, ob möglicherweise die partielle Thiazolsynthesefähigkeit durch besondere Ernährungsbedingungen beeinflusst werden könnte.

Tabelle 12 zeigt das Verhalten von *Absidia Lichtheimi* zu Aneurin und dessen Komponenten Pyrimidin und Thiazol. Aneurin lässt sich vollständig durch Pyrimidin und Thiazol ersetzen. Mit Thiazol liegen die Werte nur unwesentlich über den Kontrollen. Mit Pyrimidin ist vor allem bei supraoptimalen Konzentrationen ein beschränktes Wachstum festzustellen, welches auf eine partielle Synthesefähigkeit für Thiazol schliessen lässt. Weitere Versuche mit neu angesetzten Pyrimidinlösungen fielen negativ aus. Mittelwerte aus je 200 Kulturen ergaben für die Kontrollen T.G. von 1,98 mg, für die Kulturen mit Pyrimidin von 3,14 mg und für diejenigen mit Thiazol von 3,28 mg. Es stellte sich die Frage, warum die im ersten Versuch beobachtete, schwache Synthesefähigkeit für Thiazol plötzlich verschwinden konnte. Grundsätzlich bestanden dafür zwei Erklärungsmöglichkeiten. Entweder musste eine Verunreinigung der Pyrimidinlösung mit Spuren von Thiazol oder Aneurin oder eine gewisse Labilität in den synthetischen Fähigkeiten für Thiazol angenommen werden. Für die erste Möglichkeit sprach die grosse Empfindlichkeit von *Absidia Lichtheimi* auf Spuren von Aneurin. Eine Verunreinigung von $\frac{5}{1000} \gamma$ Aneurin oder $\frac{2}{1000} \gamma$ Thiazol pro 20 γ Pyrimidin würde genügen, um das mit Pyrimidin beobachtete Wachstum zu erklären. Angesichts der Tatsache, dass schon bei mehreren Organismen Aenderungen in den synthetischen Fähigkeiten beobachtet wurden, musste auch mit der zweiten Möglichkeit gerechnet werden.

Um die Frage abzuklären, welche der beiden Annahmen zuträfe, führte ich einen Parallelversuch mit Pyrimidin- und Thiazollösungen verschiedenen Alters und verschiedener Lieferung durch. Die Wirkstofflösungen wurden getrennt sterilisiert und über der

Tabelle 12.

Der Einfluss von Pyrimidin, Thiazol und Aneurin auf das Wachstum von *Absidia Lichtheimi*.

	3. Tag	7. Tag	17. Tag
Kontrolle	0,92 mg	0,5 mg	0,38 mg
Pyrimidin			
0,3 γ /25 ccm	1,9	2,4	1,3
3 γ /25 ccm	1,9	2,9	2,5
20 γ /25 ccm	3,4	7,0	7,2
Thiazol			
0,3 γ /25 ccm	0,4	0,5	0,4
3 γ /25 ccm	0,8	0,8	0,8
20 γ /25 ccm	1,7	2,8	1,9
Pyr. + Thiaz.			
je 0,15 γ /25 ccm	8	49	84
je 1,5 γ /25 ccm	7	61	98
je 10 γ /25 ccm	10	52	97
Aneurin			
0,3 γ /25 ccm	8	33	64
3 γ /25 ccm	10	65	97
20 γ /25 ccm	8	62	99

Flamme zugegeben. Ferner verwendete ich neue Wattepfropfen aus reiner Spitalwatte, um auf jeden Fall alle Verunreinigungen auszuschliessen. Die Ergebnisse sind aus Abbildung 12 ersichtlich. Entsprechende Thiazole und Pyrimidine gemischt ergaben nur wenig voneinander abweichende T.G. Mit der alten Thiazollösung waren die T.G. gegenüber den Kontrollen leicht, mit der neuen Thiazollösung der alten Lieferung ganz unwesentlich und mit der neuen Thiazollösung der neuen Lieferung überhaupt nicht erhöht. Mit der alten, im ersten Versuch (Tab. 12) verwendeten Pyrimidinlösung fand ich die beschränkte Synthesefähigkeit für Thiazol wieder, mit den neuen Lösungen nicht. Es zeigte sich also, dass der Pilz innerhalb der von mir beobachteten Zeitspanne gleich auf die verschiedenen Pyrimidinlösungen reagierte, dass also die unterschiedlichen Ergebnisse nicht auf einer Labilität in der Thiazolsynthese, sondern auf den verwendeten Pyrimidinlösungen beruhte. Die im ersten Versuch gefundene, scheinbare Synthesefähigkeit für

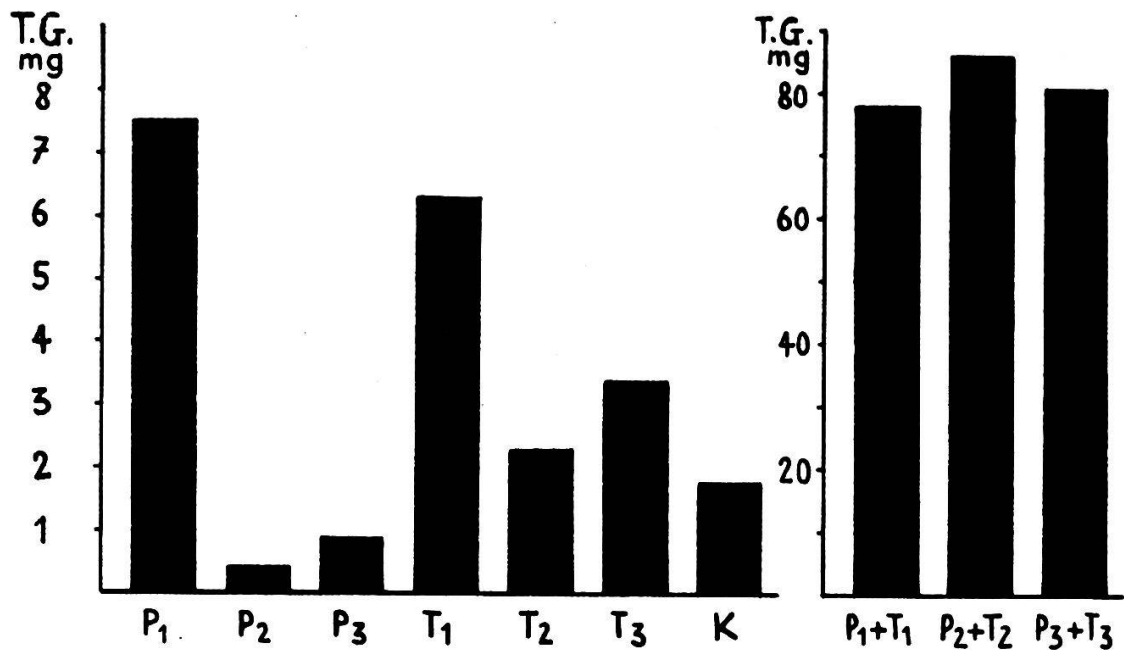


Abbildung 12.

Die Wirksamkeit von Pyrimidin- und Thiazollösungen verschiedenen Alters und verschiedener Lieferung auf *Absidia Lichtheimi* mit Asparagin als Stickstoffquelle. T.G. = Mittelwerte aus 10 Kulturen.

P₁ und T₁ = alte Pyrimidin- und Thiazollösung.

P₂ und T₂ = neue Pyrimidin und Thiazollösung neuer Lieferung.

P₃ und T₃ = neue Pyrimidin- und Thiazollösung alter Lieferung.

K = Kontrolle ohne Wirkstoff.

Thiazol musste also auf eine Verunreinigung des von mir gebrauchten Pyrimidins mit Thiazol oder Aneurin zurückgeführt werden.

Betrachten wir abschliessend den ersten Versuch (Tab. 12), der auf eine partielle Synthesefähigkeit für Thiazol schliessen liess, kritisch. Die entsprechenden Werte für je 0,15 γ , 1,5 γ und 10 γ Pyrimidin und Thiazol weichen nur wenig voneinander ab. Mit 20 γ Pyrimidin erhalten wir aber ungefähr dreimal so hohe T.G. wie mit 0,3 γ pro 25 ccm Nährlösung. Dieser Unterschied kann nach dem Parallelversuch mit verschiedenen Pyrimidin- und Thiazollösungen (Abb. 12) durch eine geringe Verunreinigung des Pyrimidins mit Thiazol oder Aneurin erklärt werden. Bei niedriger Pyrimidinkonzentration wirkt sich die Verunreinigung kaum aus. Bei stark supraoptimalen Dosen genügt sie aber, um ein gewisses Wachstum auszulösen. In einem Zeitversuch hört dieses aber, nachdem die Verunreinigung aufgebraucht worden ist, auf. Es zeigt sich also, dass es bei der Abklärung der Frage einer partiellen

Synthesefähigkeit für einen Wirkstoff notwendig ist, einen Zeitversuch mit supraoptimalen, optimalen und suboptimalen Wirkstoffdosen durchzuführen. Wird z. B. eine Thiazolsynthesefähigkeit von 20 % vermutet, dann sollte eine einem 20-igem Wachstum entsprechende Pyrimidinmenge genügen, um diese Entwicklung auszulösen. Ist nur bei supraoptimalen Pyrimidindosen eine partielle Entwicklung festzustellen, so besteht die Möglichkeit einer Verunreinigung des verwendeten Pyrimidins.

Tabelle 13.

Wirkung von Pyrimidin und Thiazol auf das Wachstum verschiedener Stämme von *Absidia ramosa* und *Absidia Lichtheimi* aus dem Tierspital. Wirkstoffgabe: 3 γ Pyrimidin oder Thiazol, bzw. je 1,5 γ Pyrimidin + Thiazol. Mittelwerte aus 8 Kulturen.

Stamm	Kontrolle	Pyrimidin	Thiazol	Pyrimidin + Thiazol
<i>Absidia ramosa</i>				
Var. <i>Rasti</i>	3,31 mg	3,81 mg	4,31 mg	61 mg
Var. <i>Zürcheri</i> , 1. Stamm	5,07	6,75	6,00	92
Var. <i>Zürcheri</i> , 2. Stamm	3,94	5,19	5,25	87
Var. <i>Zürcheri</i> , 3. Stamm	3,85	6,00	5,48	88
<i>Absidia Lichtheimi</i>				
2. Stamm	4,19	4,79	4,75	86

Tabelle 13 zeigt den Einfluss von Pyrimidin und Thiazol auf das Wachstum verschiedener Stämme von *Absidia ramosa* und *Absidia Lichtheimi* aus dem Tierspital. Alle untersuchten Stämme haben dasselbe Wirkstoffbedürfnis. Aneurin kann durch Pyrimidin und Thiazol ersetzt werden. Auf Pyrimidin oder Thiazol allein ist kein Wachstum festzustellen.

Nachdem die von Sch o p f e r (1. c.) beobachtete partielle Thiazolsynthese weder an *Absidia Lichtheimi*, Stamm aus Baarn, noch an einem Stamm aus dem Tierspital wieder gefunden werden konnte, war damit auch die Frage einer Beeinflussung derselben durch besondere Ernährungsbedingungen hinfällig geworden. Trotzdem versuchte ich, mit einigen abgeänderten Nährlösungen eine gewisse Synthesefähigkeit für Thiazol auszulösen.

Um die Frage abzuklären, ob eventuell mit einer optimalen Pyrimidindosis durch Zugabe einer stark suboptimalen Thiazolmenge eine Thiazolsynthese und damit ein Wachstum bewirkt werden

könnte, wurde ein Schachbrettversuch mit Thiazol und Pyrimidin durchgeführt. Tabelle 14 zeigt, dass Pyrimidin und Thiazol in äquimolaren Mengen optimal wirken. Bei 0,004 γ Thiazol nimmt das T.G. bei mehr als 0,004 γ Pyrimidin nicht mehr zu. Eine Spur zugegebenes Thiazol verursacht also keine Thiazolsynthese.

Tabelle 14.

Absidia Lichtheimi: Schachbrettversuch mit Pyrimidin und Thiazol (mit der abgeänderten Coonschen Nährlösung).

	0 γ T	0,004 γ T	0,04 γ T	0,4 γ T	4 γ T
0,0 γ P	1,1 mg	2,7 mg	1,9 mg	2,1 mg	2,4 mg
0,004 γ P	1,2	12,1	11,3	10,1	10,2
0,04 γ P	3,0	14,0	33,8	38,2	33,5
0,4 γ P	4,3	13,0	35,7	74,7	60,9
4,0 γ P	0,9	14,9	39,3	63,2	66,3

Die weiteren Versuche zur Abklärung der Frage der Auslösung einer partiellen Thiazolsynthese durch besondere Ernährungsbedingungen sind in Tabelle 15 zusammengefasst. Keine der untersuchten Nährlösungen löste mit Pyrimidin eine beschränkte Thiazolsynthese aus.

Tabelle 15.

Der Einfluss von Pyrimidin und Thiazol auf das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* unter verschiedenen Ernährungsbedingungen.

	Kontrolle	Pyrimidin 10 γ /25 ccm	Thiazol 10 γ /25 ccm	Pyrimidin + Thiazol je 5 γ /25 ccm
a) Verschiedene Stickstoffquellen				
KNO ₃ (3 ‰)	0,5 mg	0,7 mg	2,8 mg	53 mg
NH ₄ -Citrat (4 ‰)	2,6	1,7	3,2	92
Asparagin (2 ‰)	1,4	1,1	0,5	139
b) Optimale Glukose-Asparaginkonzentration (6 ‰ Glukose, 3 ‰ Asp.)				
	0,2	0,3	3,8	155
c) Einfluss von Spurenelementen (mit Asparagin als N-quelle)				
mit Meersalz	2,6	3,7	4,1	84
ohne Meersalz	1,5	3,2	3,4	89
mit Steinbergkat.	2,3	3,3	4,1	88
ohne Steinbergkat.	2,2	3,2	4,1	80

Diese Schlussfolgerungen, die für meine Versuche gültig sind, erklären aber nicht einwandfrei die Unterschiede zwischen den Ergebnissen von Schopfer (1936/37) und den meinigen. In Anbetracht davon, dass es heute sicher gestellt ist, dass die Synthesefähigkeiten der Mikroorganismen zeitliche Variationen aufweisen oder Variationen unterworfen werden können (im Sinne von Modifikationen oder Mutationen) müssen die erwähnten Widersprüche auch von diesem Gesichtspunkt aus betrachtet werden.

b) Pyrimidinderivate.

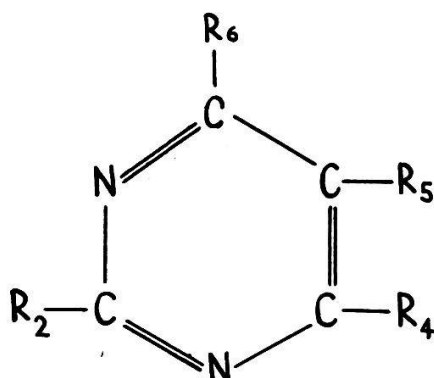
Folgende Pyrimidinderivate wurden sowohl einzeln als auch in Verbindung mit dem normalen Thiazol untersucht:

1. 2-methyl-4-amino-5-aminomethyl-pyrimidin (normales Pyrimidin)
2. 2-methyl-4-amino-5-oxymethyl-pyrimidin
3. 2-methyl-4-amino-5-thioformylaminomethyl-pyrimidin
4. 2,5-dimethyl-4-amino-pyrimidin
5. 2-äthyl-4-amino-5-thioformylaminomethyl-pyrimidin
6. 2-methyl-4-mercapto-pyrimidin
7. 2,5-dimethyl-4-oxy-pyrimidin
8. 2-methyl-4-oxy-6-amino-pyrimidin
9. 2,4-dioxy-pyrimidin (Uracil)
10. 2-methyl-6-amino-5-carbaethoxy-pyrimidin

Einzeln erwies sich keines der angewandten Derivate als wirksam. Die Ergebnisse in Verbindung mit dem normalen Thiazol sind in Tabelle 16 zusammengestellt. Das 2-methyl-4-amino-5-oxymethyl-pyrimidin wirkt gleich wie das normale Pyrimidin. Sowohl mit optimalen als auch mit supraoptimalen Dosen und zu verschiedenen Zeiten entsprechen sich die Werte. Die Untersuchungen an *Staphylococcus aureus* (Knight und Mac Ilwain 1938) und an Flagellaten (Lwoff und Dusi 1938 a) ergaben dasselbe. Das 2-methyl-4-amino-5-thioformylaminomethyl-pyrimidin zeigt kalt sterilisiert in supraoptimalen Dosen annähernd die gleiche Wirksamkeit wie das normale Pyrimidin. Mit optimalen Gaben aber liegen die Werte nur unwesentlich über den Kontrollen. Bei Warmsterilisation sind die T. G. mit supraoptimalen Dosen wesentlich höher. Es muss eine Zersetzung erfolgt sein (Abspaltung der eventuell schwach toxisch wirkenden Thiogruppe). *Phycomyces Blakesleeanus* (Schopfer 1937c, 1938a), *Ustilago violacea* (Schopfer und Blumer 1938), *Staphylococcus aureus* (Knight und Mac

Tabelle 16.

Die Wirkung verschiedener Substitutionen im Pyrimidin auf das Wachstum von *Absidia Lichtheimi*.



Nr.	Stellung				je 0,15 γ P + T		je 12 γ P + T	
	2	4	5	6	5. Tag	10. Tag	5 Tag	10. Tag
1.	CH ₃	NH ₂	CH ₂ NH ₂	H	20 mg	67 mg	22 mg	77 mg
2.	CH ₃	NH ₂	CH ₂ OH	H	22	61	19	73
3.	CH ₃	NH ₂	CH ₂ NHCHS	H	5	10	33	87
					6*	11*	13*	68*
4.	CH ₃	NH ₂	CH ₃	H	3	5	4	15
5.	C ₂ H ₅	NH ₂	CH ₂ NHCHS	H	2*	4*	2*	5*
					4	7	10	14
6.	CH ₃	SH	H	H	4	5	3	6
7.	CH ₃	OH	CH ₃	H	2	2	2	1
8.	CH ₃	OH	H	NH ₂	2	2	2	3
9.	OH	OH	H	H	4	3	4	4
10.	CH ₃	H	COOC ₂ H ₅	NH ₂	5	8	1	2
	Thiazol allein				2	4	4	4
	ohne Wirkstoff				2	2	2	2

* Kalt sterilisiert, übrige warm sterilisiert.

Ilwain 1938) und Flagellaten (Lwoff und Dusi 1938a) verhielten sich gleich. Das 2-äthyl-4-amino-5-thioformylaminomethylpyrimidin wirkt kalt sterilisiert nicht, heiss sterilisiert schwach. Bei *Phycomyces Blakesleeanus* (Schopfer 1937c, 1938a) und *Ustilago violacea* (Schopfer und Blumer 1938) erwies sich dieses Pyrimidinderivat als wirksam. Die übrigen Pyrimidinderivate zeigten in Uebereinstimmung mit den Untersuchungen der bereits zitierten Forscher sowie von Robbins und Kavanagh (1938a) keine Wirksamkeit.

Die Konstitutionsspezifität des Pyrimidins ist sehr gross. Alle Substitutionen in Stellung 4 zerstören die vitaminische Wirksam-

keit. Die Stellung 5 ist von besonderem Interesse, weil hier die Kondensation mit dem Thiazol zum ganzen Aneurinmolekül erfolgt. Es muss eine reaktionsfähige Gruppe wie NH_2 , OH oder NHCHS vorhanden sein.

c) Thiazolderivate.

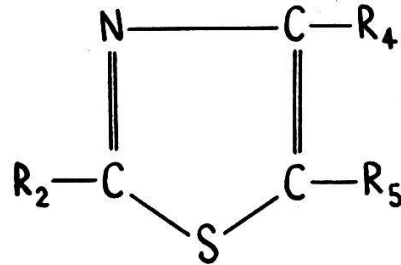
Folgende Thiazolderivate wurden untersucht:

1. 4-methyl-5- β -oxyaethyl-thiazol (normales Thiazol)
2. 3-(4'(5')-methylimidazol-4-methyl-5- β -oxyaethyl-thiazol
3. 3-benzyl-4-methyl-5- β -oxyaethyl-thiazol
4. 2-mercapto-4,5-dimethyl-thiazol
5. 2-mercapto-4-methyl-thiazol
6. 2-amino-4-methyl-thiazol
7. 2-mercapto-4-methyl-5- β -acetoxy-3-aethyl-thiazol

Allein erwies sich keines der angewandten Thiazolderivate als wirksam. Die Ergebnisse in Verbindung mit dem normalen Pyrimidin sind in Tabelle 17 zusammengestellt. Alle Thiazolderivate erwiesen sich als unwirksam. Die Konstitutionsspezifität ist also ausgeprägt. Versuche von Knight (1937 b), Knight und Mac Ilwain (1938) an *Staphylococcus aureus*, Schopfer (1937 c), Robbins und Kavanagh (1938 b), Bonner und Erickson (1938) an *Phycomyces* und von Lwoff und Dusi (1938 b) an Flagellaten ergaben ebenfalls eine grosse Konstitutionsspezifität. Aus Versuchen von Bonner und Buchmann (1938) an der Pisumwurzel dagegen ging eine geringe Konstitutionsspezifität hervor. Die verschiedenen Organismen verhalten sich also nicht gleich. Interessant sind die Ergebnisse mit dem Imidazol- und Benzylthiazol. Es handelt sich bei diesen Präparaten um ein aktives Thiazol in Verbindung mit einem inaktiven Pyrimidin. Allein sind diese Analoge unwirksam, in Gegenwart des normalen Pyrimidins voll wirksam. *Absidia Lichtheimi* ist befähigt, eine hydrolytische Spaltung vorzunehmen und so das aktive Thiazol in Gegenwart von normalem Pyrimidin auszunützen. Schopfer stellte dies erstmalig für *Phycomyces* (1937 c), Knight und Mac Ilwain (1938) für *Staphylococcus aureus* fest. *Ustilago violacea* dagegen kann dieses gebundene Thiazol, möglicherweise infolge Toxizität, nicht ausnützen (Schopfer und Blumer 1938).

Tabelle 17.

Die Wirkung verschiedener Substitutionen im Thiazol auf das Wachstum von *Absidia Lichtheimi*. Dauer des Versuchs: 11 Tage.



Nr.	Stellung			je 0,15 γ P + T	je 1,5 γ P + T
	2	4	5		
1.	H	CH ₃	CH ₂ CH ₂ OH	57 mg T. G.	80 mg T. G.
2.	Imidazol-thiazol			46	58
3.	Benzyl-thiazol			28	80
4.	SH	CH ₃	CH ₃	3	6
5.	SH	CH ₃	H	4	3
6.	NH ₂	CH ₃	H	2	2
7.	SH	CH ₃	CH ₂ CH ₂ O·COCH ₃	4	9
	Pyrimidin allein			3	2
	ohne Wirkstoff			2	2

B. Spurenelemente

Neben den 8 bis 10 in grösseren Mengen wirksamen mineralischen Nährelementen sind, was schon Raulin (1869) in seinen klassischen Untersuchungen über *Aspergillus niger* festgestellt hat, zum Gedeihen der Pflanzen weitere Elemente in kleinen Dosen notwendig. Diese in vitaminischen Konzentrationen wirksamen Elemente, für die der Quotient aus Trockengewichtserhöhung durch zugegebene Menge sehr gross ist, werden als Spurenelemente oder Wachstumsfaktoren mineralischer Natur bezeichnet. Eine scharfe Grenze gegenüber den mineralischen Nährelementen fehlt.

Verschiedene Forscher schlugen empirische Spurenelementmischungen vor, die das Wachstum höherer und niederer Pflanzen auf synthetischen Nährlösungen günstig beeinflussen sollten. Es seien hier z. B. Hoagland, der 1933 die sogenannte A-Z-Lösung aufstellte, Steinberg (1936 a und b, 1938), Berthelot (1934) und Lindeberg (1944) erwähnt. Alle diese Spuren-

elementmischungen, deren Zusammensetzung aus Tabelle 18 hervorgeht, wurden mit *Absidia Lichtheimi* geprüft.

Tabelle 18.
Zusammensetzung verschiedener Spurenelementmischungen.
(Spurenelementgehalt in γ pro 25 ccm Nährlösung).

Element	Hoagland	Berthelot	Steinberg	Lindeberg
Fe	—	400 ²⁾	5 ¹⁾	25 ¹⁾
Zn	0,3 ²⁾	0,6 ²⁾	3,5 ²⁾	25 ²⁾
Mn	2,7 ¹⁾	11,5 ²⁾	0,5 ²⁾	68 ¹⁾
Ca	—	2,9 ²⁾	—	500 ¹⁾
Cu	0,4 ²⁾	0,3 ²⁾	1,0 ²⁾	—
Ni	0,4 ²⁾	0,3 ¹⁾	—	—
Mo als NH ₄ -molybdat	—	—	0,3	—
Co	0,3 ²⁾	0,3 ¹⁾	—	—
Ti	0,5 ⁴⁾	1,7 ²⁾	—	—
Be	—	0,1 ²⁾	—	—
B als H ₃ BO ₃	2,5	0,2	—	—
J als KJ	0,5	—	—	—
Li	1,1 ¹⁾	—	—	—
Al	0,1 ²⁾	—	—	—
Sn	0,4 ¹⁾	—	—	—
Br als KBr	0,5	—	—	—

1) Als Chlorid. 2) Als Sulfat. 3) Als Nitrat. 4) Als Oxyd.

Alle Untersuchungen mit Spurenelementen sind mit Schwierigkeiten verbunden. Erste Voraussetzung, um die Wirkung eines Spurenelementes festzustellen, ist die Herstellung einer von Spurenelementen freien Nährlösung, was aber, selbst bei Anwendung besonderer Reinigungsverfahren, nicht völlig möglich ist.

Steinberg (1936 b) stellte z. B. in Glukose spektroskopisch Li, Na, Sr, Ca, Rb, K, Mn, Al, Fe, Rh, Ni, Ag, Cu, Mg, Sn, B und Si fest. Nach den Angaben von Merck kommen in 0,5 g Glukose, die in der Regel pro Erlenmeyerkolben zugesetzt wird, bis maximal 2,0 γ Zn, 1,5 γ Al, 15 γ Ca, 1 γ Fe und 1 γ Pb vor.

Auch mit dem Asparagin gelangt eine relativ grosse Menge derartiger Elemente in die Nährlösung. Es empfiehlt sich deshalb, bei Untersuchungen über die Wirkung von Spurenelementen das viel reiner erhältliche KNO₃ als Stickstoffquelle zu verwenden. Aber auch die reinsten anorganischen Salze enthalten noch Spurenelemente.

Abschliessend sei darauf hingewiesen, dass Pirschle (1938 und 1939) und Scharrer (1941) Zusammenfassungen über die zahlreichen bis dahin erschienenen, das Gebiet der Spurenelemente betreffenden Arbeiten gegeben haben.

1. Spurenelementmischungen nach Hoagland, Berthelot, Steinberg und Lindeberg.

a) Konzentrationsversuche.

Tabelle 19 gibt Aufschluss über die Ergebnisse. Wie das Gesetz von Arndt und Schultz verlangt, nimmt die Förderung durch Spurenelemente mit steigender Konzentration bis zu einem Optimum zu, um hierauf wieder abzunehmen und schliesslich in Hemmung überzugehen. Die Spurenelementmischungen nach Steinberg und Lindeberg erwiesen sich als sehr, diejenigen von Berthelot und Hoagland als wenig wirksam. Die von den betreffenden Forschern angegebenen Normalkonzentrationen wirken ungefähr optimal. Es ist bemerkenswert festzustellen, dass die 100-fach verdünnte Spurenelementmischung nach Steinberg, die pro 25 ccm Nährlösung einen Spurenelementgehalt von nur $\frac{1}{10}$ % aufweist, schon eine Steigerung von 26 % ergibt. Die Empfindlichkeit auf Spurenelemente in Gegenwart von unentbehrlichen Vitaminen ist demnach beinahe so gross wie auf das Aneurin. Man ist daher durchaus berechtigt von Wachstumsfaktoren mineralischer Natur zu sprechen.

Tabelle 19.

Prozentuale Förderung oder Hemmung des Wachstums von *Absidia Lichtheimi* in Abhängigkeit von der Konzentration der Spurenelemente. (Stickstoffquelle: 4 ‰ KNO_3 ; N = Normalkonzentrationen nach Tabelle 18. T. G. der Kontrolle ohne Spurenelemente: 50 mg.)

	Hoagland	Berthelot	Steinberg	Lindeberg
$\frac{1}{100}$ N	+ 2 %	— 2 %	+ 26 %	+ 40 %
$\frac{1}{10}$ N	+ 12 %	+ 2 %	+ 60 %	+ 112 %
$\frac{1}{1}$ N	+ 30 %	+ 30 %	+ 166 %	+ 122 %
10 N	— 8 %	— 70 %	+ 166 %	+ 158 %
100 N	— 80 %	— 100 %	— 30 %	— 99 %

b) Einzeluntersuchung der verwendeten Spurenelemente.

Die Prüfung der Spurenelemente erfolgte in der Regel sowohl mit KNO_3 als auch mit Asparagin als Stickstoffquelle. Bei der einen Hälfte der Versuche wurde festgestellt, ob das betreffende Spurenelement einzeln, bei der andern, ob es in Verbindung mit dem Spurenelementgemisch von Steinberg eine Wirkung ausübt. Die Elemente sind nach den Gruppen des periodischen Systems geordnet.

Lithium (Untersuchungsbereich: 0 bis 100 γ pro 25 ccm Nährlösung).

Lithium ist bis dahin wenig untersucht worden. Mit den höchsten Konzentrationen fand ich eine Förderung von etwa 10 %.

Kupfer.

Tabelle 20 zeigt die Wirkung von Kupfer auf das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* ohne gleichzeitige Zugabe von andern Spurenelementen. Wird in der Spurenelementmischung nach Steinberg (Tab. 18) Cu weggelassen, so sind die Erträge etwa 8 % geringer. Cu fördert also das Wachstum sowohl einzeln als auch in Verbindung mit andern positiv wirkenden Kationen, wo eine gegenseitige Unterstützung, also Synergismus beobachtet wurde. Indessen sind schon verhältnismässig schwache Konzentrationen stark hemmend.

Tabelle 20.

Der Einfluss von Kupfer auf das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* (mit 2,72 ‰ KNO_3 als Stickstoffquelle).

Cu in $\gamma/25$ ccm Nährlösung	0,0	0,01	0,1	1,0	10	100
T. G. in mg	71	66	70	80	64	41

In der Literatur finden wir zahlreiche Beobachtungen über Stimulationen und Hemmungen.

Bortels (1927) und Roberg (1928) stellten zum erstenmal eine Notwendigkeit von Cu zur Bildung des schwarzen Sporenfarbstoffes von *Aspergillus niger* fest.

Steinberg (1935 a und b, 1936 a und b), Gollmick (1936), Sakamura (1936, 1941) u. a. fanden, dass Cu nicht nur für die

Bildung des schwarzen Konidienfarbstoffes, sondern auch für die Sporenbildung und das Wachstum überhaupt nötig sind.

Molliard (1922) fand, dass der ökonomische Koeffizient von Aspergilluskulturen durch Cu erhöht wird. Es konnte festgestellt werden, dass Cu einen wesentlichen Anteil bestimmter Enzyme bildet. Kubowitz (1937) wies nach, dass die Kartoffeloxydase ein Cu-Proteid ist. Cu-salze scheinen hauptsächlich als Oxydationskatalysatoren zu wirken, womit die pflanzenphysiologischen Wirkungen (wie Bildung des schwarzen Sporenfärbstoffes durch *Aspergillus niger*) gut übereinstimmen.

Beryllium (Untersuchungsbereich: 0 bis 100 γ pro 25 ccm Nährlösung).

Die geringen Konzentrationen ergaben eine sehr schwache Förderung, die aber noch innerhalb der Fehlergrenze liegt. Bei höheren Konzentrationen trat eine schwache Hemmung auf.

In der Literatur finden wir wenig Angaben über die Wirkung des Berylliums. Pirschle (1934) beobachtete eine starke Wachstumsförderung bei *Aspergillus niger*.

Calcium.

Calcium ist eigentlich nicht zu den Spurenelementen zu rechnen. Es gehört zu den für die höheren Pflanzen absolut erforderlichen 10 Elementen. Die Notwendigkeit für Pilze ist aber bestritten.

Raulin (1869), Molisch (1894) und Benecke (1894, 1895) kamen zum Ergebnis, dass Ca kein notwendiges Element für die Gattungen *Aspergillus*, *Penicillium* und *Mucor* sei. Auch Bortels (1927) und Roberg (1928, 1931) konnten diese Feststellung für *Aspergillus niger* bestätigen. Für andere Pilze scheint Ca fördernd zu wirken, so dass die Notwendigkeit noch nicht endgültig abgeklärt ist.

Tabellen 21 und 22 geben Aufschluss über den Einfluss von Ca auf das Wachstum von *Absidia Lichtheimi*. Aus Tabelle 21 könnte auf eine Förderung durch Ca geschlossen werden. Tabelle 22 spricht dagegen. Es ist wahrscheinlich, dass die schwach positive Wirkung von Ca allein in hohen Dosen nicht auf dem Ca beruht, sondern auf andern Spurenelementen, die als Verunreinigungen des verwendeten Ca-Chlorids in die Nährlösung gelangten; sonst sollte Ca auch in Verbindung mit anderen Katalysatoren (Tab. 22) eine positive Wirkung ausüben.

Tabelle 21.

Absidia Lichtheimi: Abhängigkeit des Wachstums von der Calciumkonzentration (mit 10‰ KNO_3 als Stickstoffquelle).

Ca in $\gamma/25$ ccm Nährlösung	0	5	50	500	5000	50000
T. G. in mg	49	59	55	60	57	47

Tabelle 22.

Der Einfluss von Ca auf *Absidia Lichtheimi* in Verbindung mit verschiedenen Spurenelementkombinationen nach Steinberg (mit 2,72‰ KNO_3 als Stickstoffquelle).

	S	S ohne Fe	S ohne Zn	S ohne Mn	S ohne Cu	S ohne Mo
ohne Ca	120 mg	98 mg	83 mg	122 mg	110 mg	122 mg
mit 500 γ Ca pro 25 ccm Nährlösung	123	95	78	121	115	122

S = Spurenelementmischung nach Steinberg (Tabelle 18).

Zink.

Tabelle 23 zeigt, dass das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* durch Zink sehr stark gefördert wird. Die von Lindeberg (1944) angewandte Zinkkonzentration von 25 γ pro 25 ccm Nährlösung wirkt optimal. Die Steigerung des T. G. beträgt rund 70 %. Wird Zn in der Spurenelementmischung von Steinberg weggelassen, so sinkt das T. G. um 30 %. In grösseren Dosen wird das Wachstum durch Zink fast vollständig gehemmt. Zn ist das wirksamste der bis jetzt untersuchten Spurenelemente. Schon Raulin (1869) hatte gezeigt, dass Zn ein für *Aspergillus niger* notwendiges Element ist, was Steinberg (1919), Bortels (1927) und Roberg (1928, 1931) bestätigten. Leonian und Lilly (1940) fanden, dass *Phycomyces Blakesleeanus* ohne Zn kein maximales Wachstum erreicht. Lindeberg (1944) konnte für verschiedene *Marasmius*arten eine Förderung durch Zn feststellen. Lohmann (1934) erbrachte den Beweis, dass *Aspergillus niger* auf einer mit Tierkohlebehandlung gereinigten Nährlösung ohne Zinkzusatz überhaupt nicht gedeiht.

Tabelle 23.

Der Einfluss der Zinkkonzentration auf das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* (mit 10‰ KNO_3 als Stickstoffquelle).

Zn in γ pro 25 ccm Nährlösung	0	0,25	2,5	25	250	2500
T. G. in mg	49	57	70	83	67	3

Ueber die Rolle des Zinks im Stoffwechsel von Schimmelpilzen ist bis heute noch nichts bekannt. Foster und Waksman (1939) fanden, dass der ökonomische Koeffizient von *Rhizopus nigricans* erhöht wird, was mit den Beobachtungen anderer Forscher übereinstimmt. Es ist deshalb möglich, dass Zn irgendwie im Kohlehydratstoffwechsel eine Rolle spielt.

Bor (Untersuchungsbereich: 0 bis 2500 γ pro 25 ccm Nährlösung).

Unter allen Versuchsbedingungen konnte keine positive Wirkung beobachtet werden. Die grössten Konzentrationen schienen das Wachstum ganz unwesentlich zu hemmen. Bei höheren Pflanzen wurde die Notwendigkeit von Bor durch zahlreiche Untersuchungen bewiesen. Die niederen Pflanzen sind bis dahin wenig untersucht worden. Es liegen keine Beobachtungen über Stimulationen vor, wenn wir von Cusumano (1925) und Pirschle (1935) absehen, die bei *Aspergillus niger* unter bestimmten Bedingungen eine Förderung feststellten.

Aluminium (Untersuchungsbereich: 0 bis 1000 γ pro 25 ccm Nährlösung).

Es konnte unter allen Versuchsbedingungen keine Förderung, wohl aber schon bei geringen Konzentrationen eine Hemmung beobachtet werden. Die Wirkung von Al auf Pilze ist bis dahin wenig untersucht worden.

Titan (Untersuchungsbereich: 0 bis 1000 γ pro 25 ccm Nährlösung).

Mit Ti trat unter allen Versuchsbedingungen keine Förderung ein. Höhere Konzentrationen hemmten das Wachstum. In der Literatur finden wir, abgesehen von Pirschle (1935), der mit Ti-Sulfat eine stimulierende Wirkung auf *Aspergillus niger* beobach-

tete, keine weiteren Angaben über Wachstumsförderungen bei Pilzen.

Zinn (Untersuchungsbereich: 0 bis 80 γ pro 25 ccm Nährlösung).

Die niedrigsten Konzentrationen förderten schwach, die höchsten hemmten stark. Die Wirkung von Sn auf Pilze ist bis dahin wenig untersucht worden.

Molybdän (Untersuchungsbereich: 0 bis 25 γ pro 25 ccm Nährlösung).

Ich konnte mit Mo keine Wachstumssteigerung beobachten.

Bortels (1930) stellte bei Azotobacterarten eine Förderung fest und schloss daraus auf eine Bedeutung von Mo für die Bindung des Luftstickstoffs. Nach Steinberg (1936 b, 1937) ist Mo für das Wachstum von *Aspergillus niger* nötig. Da das Molybdänbedürfnis mit Nitraten grösser ist als mit Ammonsalzen und organischen Stickstoffverbindungen nimmt Steinberg an, dass es sich um einen Katalysatoren der Nitatreduktion handelt.

M a n g a n.

Tabelle 24 zeigt, dass Mn das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* deutlich fördert. Die von Lindeberg angegebene Normalkonzentration von 68 γ pro 25 ccm Nährlösung wirkt optimal. Die Förderung beträgt hier rund 18 %. Grössere Dosen wirken nicht hemmend.

Tabelle 24.

Der Einfluss von Mangan auf das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* (mit 10 ‰ KNO_3 als Stickstoffquelle).

Mn in γ pro 25 ccm Nährlösung	0	0,68	6,8	68	680	6800
T. G. in mg	49	57	58	62	58	51

Bertrand und Javillier (1911 a, b, c), Bertrand (1912 a, b) und Steinberg (1935 a, b) stellten bei *Aspergillus niger* eine Förderung fest. Lindeberg (1944) beobachtete bei verschiedenen *Marasmius*arten eine mehr oder weniger starke Steigerung des T. G.

Mn scheint bei vielen Stoffwechselfvorgängen als Katalysator zu dienen, z. B. bei der Nitratreduktion (Burström 1939) und beim Stärkeabbau (Biedermann und Jernakoff 1924).

Brom und Jod (Untersuchungsbereich: 0 bis 100 γ pro 25 ccm Nährlösung).

Kleine Konzentrationen schienen die T. G. unwesentlich zu erhöhen, höhere beeinflussten das Wachstum nicht. Brom und Jod sind bei Pflanzen noch wenig untersucht worden. Mit Sicherheit steht aber heute fest, dass Jod von den Pflanzen nicht benötigt wird.

Eisen.

Das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* wird durch Fe gefördert (Tab. 25). Höhere Konzentrationen dagegen wirken stark hemmend.

Schon Raulin (1869) beobachtete mit *Aspergillus niger* eine Wachstumsförderung, welche durch Steinberg (1919), Bortels (1927) und Roberg (1928, 1931) bestätigt wurde.

Tabelle 25.

Der Einfluss von Eisen auf das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* (mit 10 ‰ KNO_3 als Stickstoffquelle).

Fe in γ pro 25 ccm Nährlösung	0,0	0,25	2,5	25	250	2500
T. G. in mg	49	54	70	64	60	4

Kobalt und Nickel.

Die Ergebnisse sind aus den Tabellen 26 und 27 ersichtlich.

Co fördert mit KNO_3 das Wachstum von *Absidia Lichtheimi*. Werden aber zugleich Steinbergkatalysatoren zugesetzt, die das Element Co nicht enthalten, so ist eine Hemmung zu beobachten. Mit Asparagin tritt weder mit noch ohne Steinbergkatalysatoren eine Förderung ein. Auf Grund dieser Versuche kann nicht von einer Notwendigkeit von Co für das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* gesprochen werden. Es scheint mir möglich, dass die Steigerung des Trockengewichts mit KNO_3 als Stickstoffquelle nicht auf dem Kobalt beruht, sondern auf andern Spurenelementen, die mit dem Kobaltchlorid in die Nährlösung gelangten. Die Steinbergkatalysatoren, sowie das Asparagin scheinen diese Spuren-

Tabelle 26.

Die Wirkung von Kobalt auf das Wachstum von Absidia Lichtheimi.

Co in γ pro 25 ccm Nährlösung	0,0	0,025	0,25	2,5	25	250
2,72 ‰ KNO_3	37 mg	39 mg	55 mg	33 mg	29 mg	6 mg
2,72 ‰ KNO_3 + Steinbergkat.	95	86	93	76	79	6
2 ‰ Asparagin	114	88	109	72	61	36
2 ‰ Asparagin + Steinbergkat.	165	152	163	159	154	43

elemente zu enthalten. Es ist deshalb keine Erhöhung des T.G. zu erwarten. Schon verhältnismässig kleine Co-Dosen hemmen die Entwicklung beträchtlich.

Ni fördert mit Asparagin und KNO_3 als Stickstoffquelle das Wachstum leicht. Bei gleichzeitiger Zugabe von Steinbergkatalysatoren tritt keine Erhöhung des T.G. ein. Schon verhältnismässig kleine Ni-Dosen hemmen das Wachstum vollständig. Aus diesen Versuchen kann nicht mit Sicherheit auf eine Notwendigkeit von Ni für eine optimale Entwicklung geschlossen werden.

In der Literatur finden wir zahlreiche Angaben über Förderungen und Hemmungen an Schimmelpilzen, die durch Co und Ni verursacht werden. Die Widersprüche in den Ergebnissen dürften

Tabelle 27.

Die Wirkung von Nickel auf das Wachstum von Absidia Lichtheimi.

Ni in γ pro 25 ccm Nährlösung	0,0	0,035	0,35	3,5	35	350
2,72 ‰ KNO_3	30 mg	27 mg	40 mg	47 mg	24 mg	0 mg
2,72 ‰ KNO_3 + Steinbergkat.	111	102	106	107	45	0
2 ‰ Asparagin	106	105	114	121	45	0
2 ‰ Asparagin + Steinbergkat.	172	163	162	154	138	0

teilweise durch verschiedene Versuchsbedingungen zu erklären sein. Unsere Versuche zeigten, dass es notwendig ist, die Wirkung eines Spurenelements unter verschiedenen Ernährungsbedingungen zu studieren, um nicht voreilig auf Stimulationen zu schliessen.

c) Kombinationsversuche mit den Spurenelementmischungen nach Lindeberg und Steinberg.

Abbildung 13 zeigt das Verhalten von *Absidia Lichtheimi* zu den Spurenelementen von Lindeberg in verschiedenen Konzentrationen, einzeln und gemischt. Die grösste Steigerung des T.G. tritt mit Zn ein. Darauf folgen Fe, Mn und Ca. Werden alle Metalle gleichzeitig zugesetzt, so addieren sich die Förderungen, d. h. die Metallmischung wirkt synergistisch.

Tabelle 28.

Prozentuale Förderung des Wachstums von *Absidia Lichtheimi* durch Spurenelemente nach Steinberg in verschiedener Kombination (mit 2,72 ‰ KNO_3 als Stickstoffquelle).

Zn + Fe + Mn + Mo + Cu	98 %
Mo allein	5
alle ohne Mo	97
Fe allein	6
alle ohne Fe	58
Mn allein	8
alle ohne Mn	97
Zn allein	45
alle ohne Zn	34
Cu allein	0
alle ohne Cu	77

Tabelle 28 ergibt, dass auch die Steinbergkatalysatoren synergistisch wirken. Es fällt auf, dass Fe und Cu einzeln nicht oder sehr schwach fördern, aber beim Fehlen in der Spurenelementmischung eine beträchtliche Erniedrigung des T.G. zur Folge haben.

d) Diskussion der verschiedenen Wirksamkeit der untersuchten Spurenelementmischungen.

Es wurde festgestellt, dass die aus nur wenigen Spurenelementen zusammengesetzten Katalysatormischungen nach Linde-

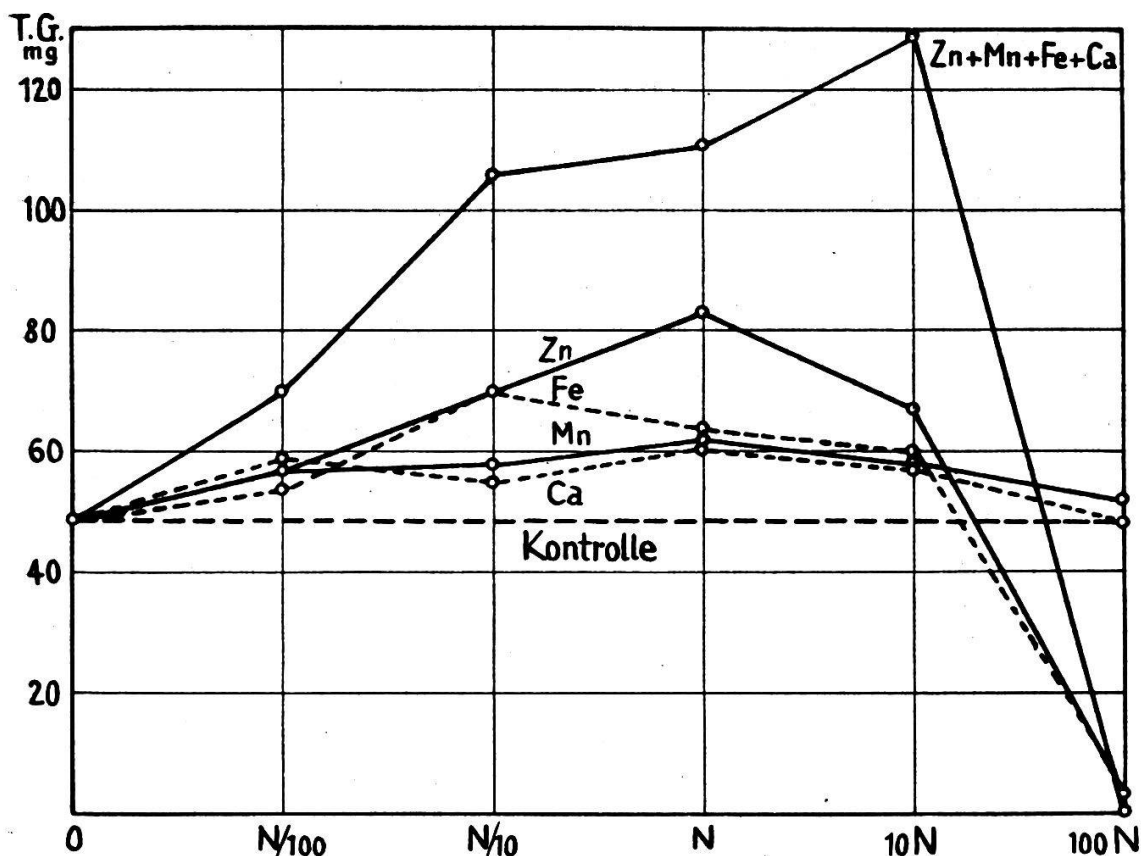


Abbildung 13.

Der Einfluss der Lindebergkatalysatoren (einzeln und gemischt) in verschiedener Konzentration auf das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* (mit 10‰ KNO_3 als Stickstoffquelle).

N = Normalkonzentration (Tabelle 18).

berg und Steinberg grosse, diejenigen von Berthelot und vor allem von Hoagland nur geringe Gewichtssteigerungen bewirken. Versuche von Lindeberg (1944) ergaben für *Marasmius rotula* ebenfalls durch die A-Z-Lösung im Vergleich zu seiner eigenen Spurenelementmischung eine geringe Steigerung des T.G. Auf Grund der Einzeluntersuchung der in der A-Z-Lösung verwandten Elemente muss die schwache Wirksamkeit einerseits auf die zu geringe Konzentration des besonders wirksamen Zinks und auf das völlige Fehlen des Eisens, andererseits auf eine gewisse Hemmung durch Elemente wie Ti, Co, Al und Ni zurückgeführt werden.

e) Die Abhängigkeit der Spurenelementwirkung von den Versuchsbedingungen.

Zeit.

Aus Abbildung 14 ist die Spurenelementwirkung als Funktion der Zeit bei niedriger KNO_3 -Konzentration ersichtlich. Bis zum Abschluss der Hauptwachstumsperiode steigt die durch die Katalysatoren bedingte Förderung rasch bis zu einem Maximum von 170 % an, um danach allmählich abzusinken.

Werden die Katalysatoren erst nachträglich beigelegt, so setzt sofort ein intensives Wachstum ein. Nach 34 Tagen ist der Wachstumsrückstand beinahe eingeholt. Die Spurenelemente wirken also in Gegenwart von notwendigem Vitamin als beschränkender Faktor.

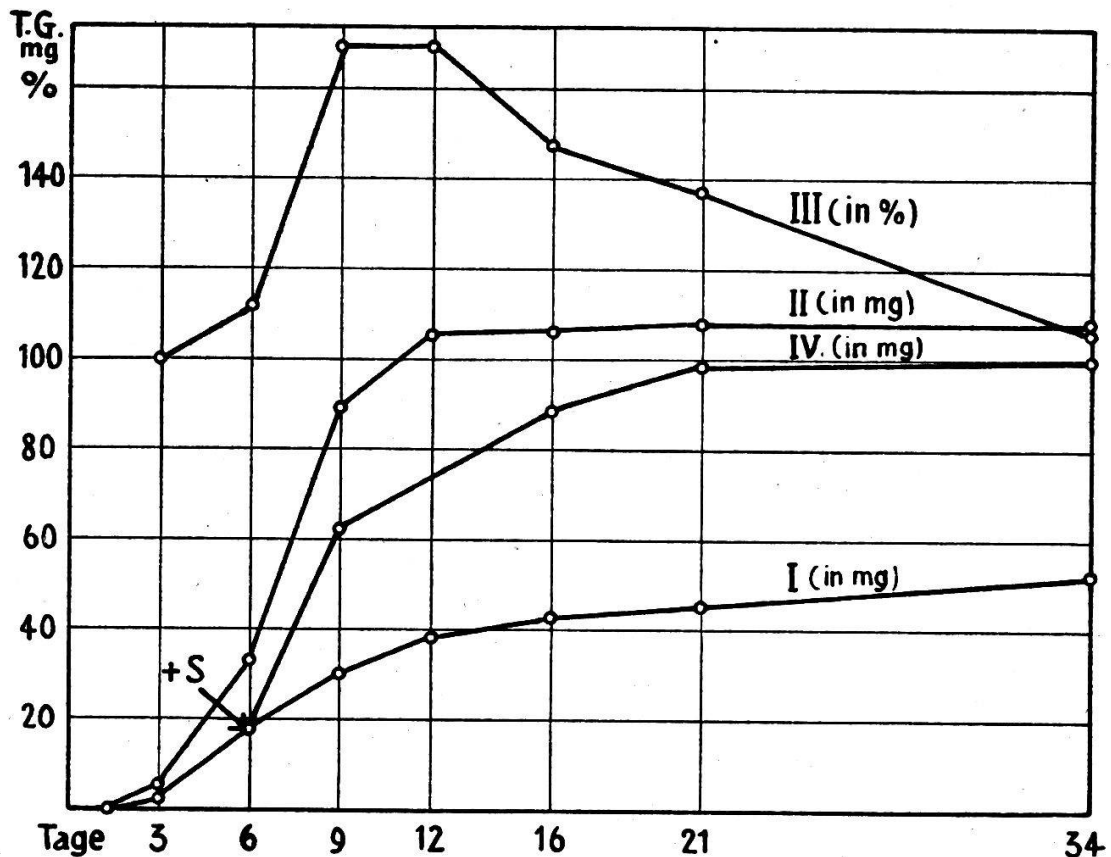


Abbildung 14.

Absidia Lichtheimi: Die Spurenelementwirkung als Funktion der Zeit. Mit 1,36 ‰ KNO_3 als Stickstoffquelle. Mit Steinerkatalysatoren in Normalkonzentration (Tabelle 18).

I: Kontrolle ohne Spurenelemente; II: mit Spurenelementen; III: Förderung in %; IV: Nachträglicher Zusatz von Spurenelementen.

Mit hohen KNO_3 -Konzentrationen (Abb. 15) sind die Ergebnisse ähnlich. Die Förderung ist aber anfänglich gering, um sehr rasch zu einem beträchtlich höheren Maximum (274 %) anzusteigen und hierauf wieder infolge Autolyse stark abzusinken (bis auf etwa 60 %).

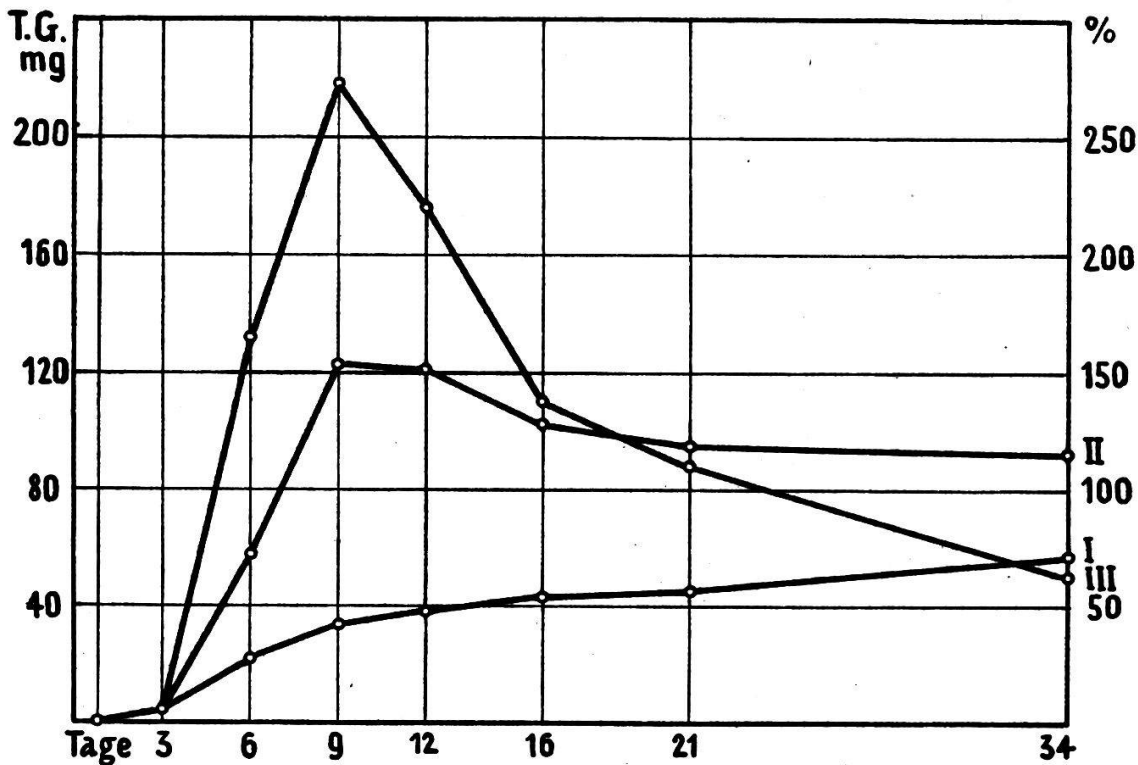


Abbildung 15.

Absidia Lichtheimi: Die Spurenelementwirkung als Funktion der Zeit. Mit 5,44 ‰ KNO_3 als Stickstoffquelle. Mit Steinbergkatalysatoren in Normalkonzentration (Tabelle 18).

I: Kontrolle ohne Spurenelemente; II: Mit Spurenelementen;
III: Förderung in %.

Aus Abbildung 16 sind die Ergebnisse eines entsprechenden Zeitversuchs mit Asparagin als Stickstoffquelle ersichtlich. Bei einer Asparaginkonzentration von 1 ‰ üben die Spurenelemente keinen Einfluss aus. Mit 4 ‰ Asparagin sind die Ergebnisse ähnlich wie mit hohen KNO_3 -Dosen. Die Förderungen sind aber bedeutend geringer (bis maximal 82 %). In späten Entwicklungsstadien wird die Autolyse durch die metallischen Katalysatoren stark erhöht, so dass eine Hemmung festzustellen ist.

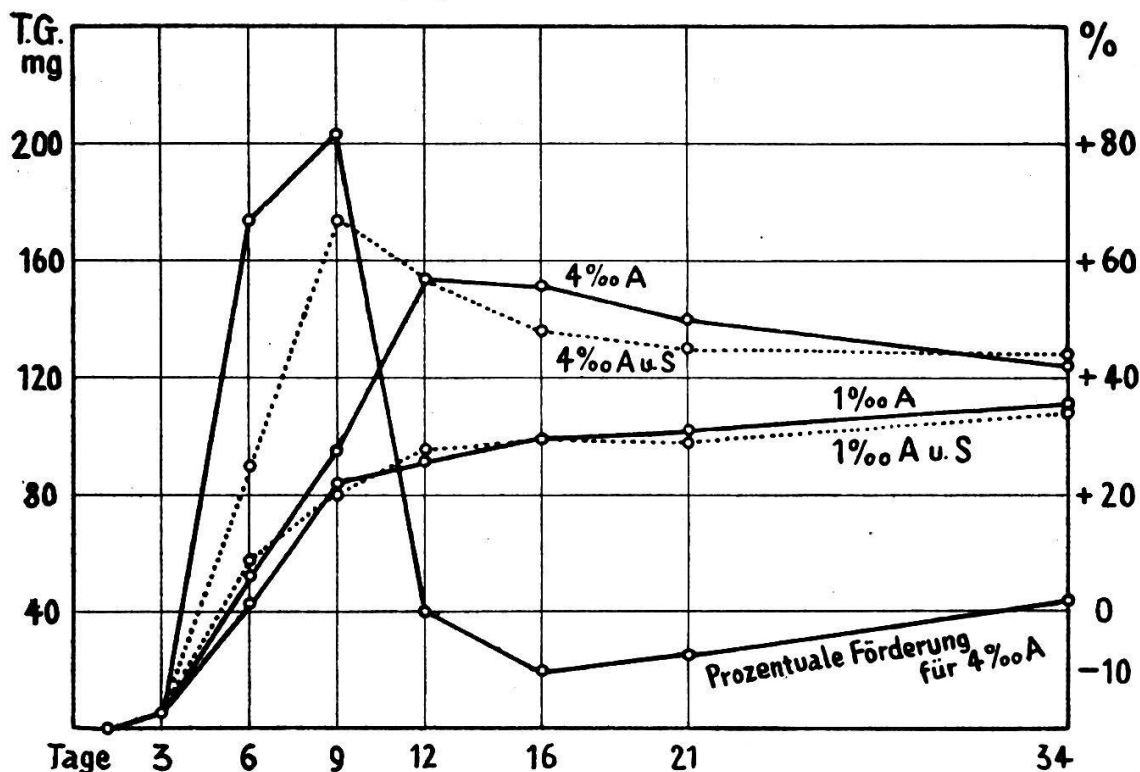


Abbildung 16.

Absidia Lichtheimi: Die Spurenelementwirkung als Funktion der Zeit, mit Asparagin als Stickstoffquelle.

S = Steinbergkatalysatoren in Normalkonzentration (Tabelle 18).

A = Asparagin.

Stickstoffkonzentration.

Abbildung 17 zeigt das Wachstum von *Absidia Lichtheimi* als Funktion der Stickstoffkonzentration, mit und ohne Zugabe von Lindebergkatalysatoren. Der Stickstoff wird durch Asparagin, Ammoniumcitrat, Ammoniumtartrat oder KNO_3 geliefert. Die Kurven mit Spurenelementen stimmen im grossen und ganzen überein. Ohne Katalysatoren weichen sie bis zu einer Stickstoffdosis von 2,5 mg pro 25 ccm Nährlösung ebenfalls nicht voneinander ab. Grössere Stickstoffgaben erhöhen die T.G. mit KNO_3 nur sehr wenig, mit Ammoniumcitrat und Ammoniumtartrat wenig, mit Asparagin dagegen wesentlich mehr. Hurni (1944) konnte bei *Phycomyces Blakesleeanus* mit Ammoniumcitrat, Ammoniumtartrat und Asparagin dasselbe beobachten. Er schloss daraus, dass *Phycomyces Blakesleeanus* keine andere Stickstoffquelle so gut ausnützen könne wie Asparagin. 1945 stellte er aber fest, dass auch mit Ammoniumcitrat bei Zugabe von Spurenelementen hohe T.G. erreicht

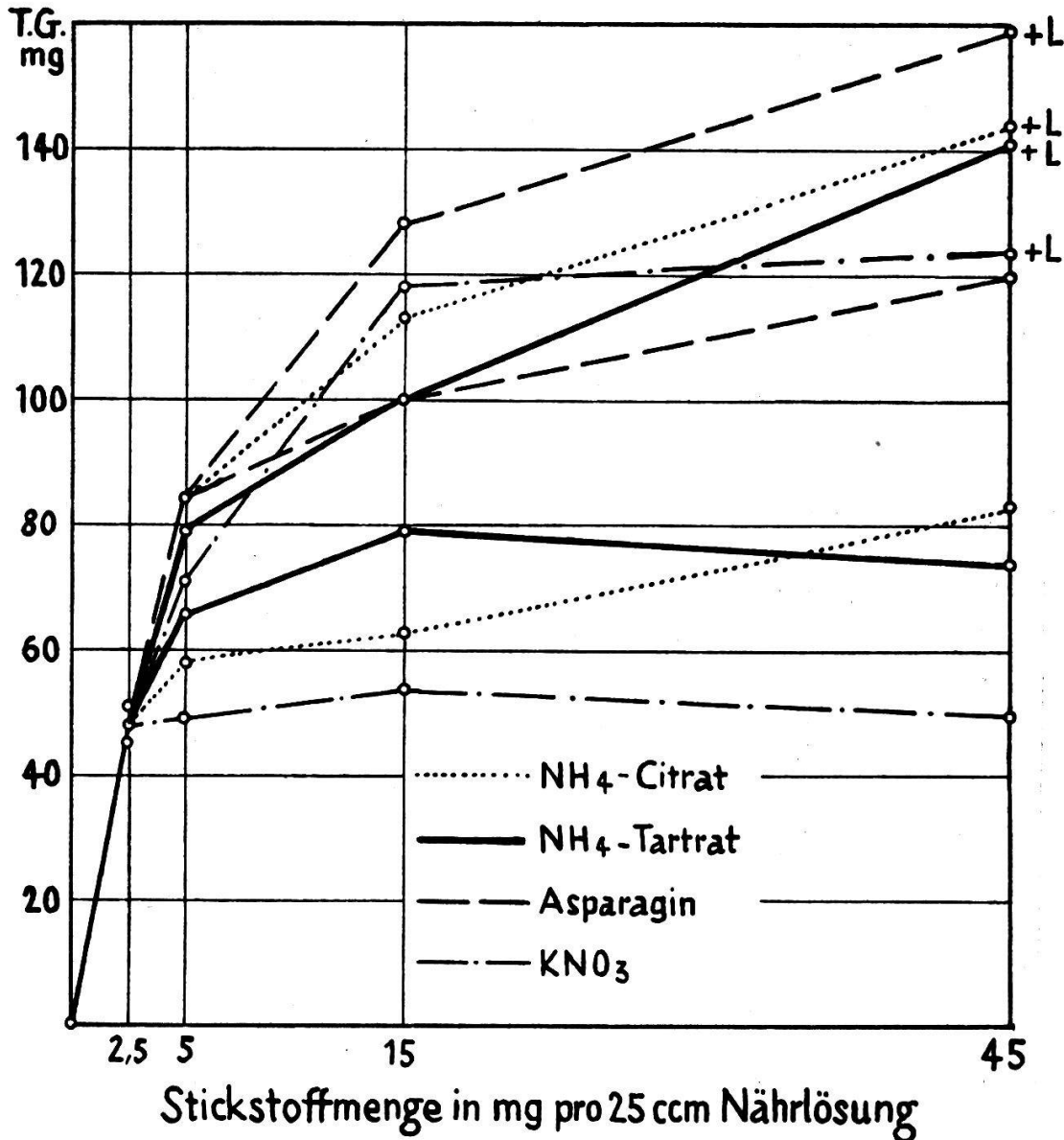


Abbildung 17.

Absidia Lichtheimi: Die Spurenelementwirkung als Funktion der Stickstoffkonzentration. Versuchsdauer: 8 Tage.

L = Lindebergkatalysatoren in Normalkonzentration (Tabelle 18).

werden. Die durch die Katalysatoren maximal erzielte Förderung betrug 270 %.

Nach meiner Ansicht sind die Ergebnisse etwa folgendermassen zu deuten: Ich nehme an, dass *Absidia Lichtheimi* den Stickstoff aus Asparagin, Ammoniumcitrat, Ammoniumtartrat und KNO₃ gleich gut aufnehmen kann, dass aber eine maximale Entwicklung (maximale Ausnutzung der vorhandenen Nährstoffe wie Glukose und Stickstoffquelle) an die Anwesenheit von Spurenelementen ge-

bunden ist. Ein Teil der Spurenelemente kommt durch die Glukose in die Nährlösung. Ist die Stickstoffmenge gering, so wirken der Stickstoffmangel und nicht die metallischen Katalysatoren als begrenzender Faktor. Werden höhere Stickstoffgaben geboten, so steigt bei dem praktisch von Verunreinigungen freien KNO_3 das T. G. nicht mehr an. Die Spurenelemente wirken als beschränkender Faktor. Mit dem weniger reinen Ammoniumcitrat und -Tartrat gelangen zusätzlich kleine Spurenelementmengen in die Nährlösung und erlauben ein geringes weiteres Wachstum. Die Trockengewichtskurven steigen noch schwach an. Mit Asparagin sind die T. G. bis zu einer Konzentration von 1 ‰ (5 mg N pro 25 ccm Nährlösung) mit und ohne Katalysatoren ungefähr gleich. Die in der Glukose und dem wenig reinen Asparagin enthaltenen, metallischen Katalysatoren genügen, um ein optimales Wachstum zu ermöglichen. Bei höheren Asparagindosen reicht die noch zusätzlich durch das Asparagin in die Nährlösung gelangende Spurenelementmenge nicht mehr aus, um ein optimales Wachstum zu gewährleisten. Eine Zugabe von Spurenelementen wirkt daher fördernd. Ohne einen Stickstoffkonzentrationsversuch hätte der falsche Schluss gezogen werden können, dass die Spurenelemente nur bei KNO_3 , Ammoniumcitrat und -Tartrat eine Steigerung des Trockengewichts bedingen. Das hätte leicht zu der falschen Vermutung geführt, dass die Spurenelemente eine besondere Rolle bei der Assimilation von anorganischem Nitrat- und Ammoniakstickstoff spielen, dagegen nicht bei einer organischen Stickstoffquelle wie Asparagin. Es scheint aber, wenigstens für *Absidia Lichtheimi*, dass für die maximale Entwicklung mit irgendeiner Stickstoffquelle Spurenelemente nötig sind. Asparagin würde also nicht deshalb das beste Wachstum ermöglichen, weil es ein Amid ist, sondern weil es als relativ unreine Substanz die notwendigen Spurenelemente enthält. Mit KNO_3 können bei Zugabe von Spurenelementen gleich hohe oder höhere Trockengewichte wie mit derselben Stickstoffmenge in Form von Asparagin ohne Katalysatoren erreicht werden. In vielen Versuchen kann daher an Stelle des teuren Asparagins das billige KNO_3 mit Zusatz von Spurenelementen verwendet werden.

Verschiedene Stickstoffquellen.

Tabelle 29 zeigt die Wirksamkeit der Spurenelementmischungen nach Lindeberg und Steinberg mit verschiedenen Stickstoff-

quellen. Pro Erlenmeyerkolben wurden 20 mg N (entspricht einer 2⁰/₀₀igen Asparaginlösung) beigelegt. Ohne Zugabe von metallischen Katalysatoren weichen die erhaltenen Trockengewichte stark voneinander ab. Nur Asparagin scheint leicht assimilierbar. Mit Zugabe von Steinberg- oder Lindeberg-Katalysatoren sind die Ergebnisse viel ausgeglichener, wenn wir von Harnsäure, NH₄-oxalat, (NH₄)₂SO₄, NH₄Cl und NH₄NO₃ (d. h. meist Salze starker Säuren, die sich wegen der freiwerdenden Säure nicht als Stickstoffquelle eignen) absehen. Günstig sind neben Asparagin vor allem Ammoniumsalze organischer Säuren, Nitrate und die Aminosäure Glykokoll, die ohne Zugabe von Metallen nur ein geringes Wachstum ergibt. Ammoniumsalze werden im allgemeinen um so besser aufgenommen, je schwächer die freiwerdende Säure ist, was mit den Beobachtungen von Ritter (1909, 1911) an verschiedenen Schimmelpilzen übereinstimmt. Interessant ist die Feststellung, dass Asparagin zwar ein hohes Trockengewicht, aber ein verhältnismässig wenig zusammenhängendes Substrat- und ein

Tabelle 29.

Absidia Lichtheimi: Die Abhängigkeit der Spurenelementwirkung von der Stickstoffquelle.

N-Quelle	Kontrolle		Lindebergkat.		Steinbergkat.	
	T. G. in mg	T. G. in %	T. G. in mg	T. G. in %	T. G. in mg	T. G. in %
! Ca(NO ₃) ₂	55	100	117	212	136	247
! KNO ₃	58	100	109	188	122	210
* NH ₄ Cl	43	100	44	102	42	98
* (NH ₄) ₂ SO ₄	37	100	44	119	43	116
* NH ₄ NO ₃	48	100	58	121	56	117
+ NH ₄ -oxalat	64	100	65	102	65	102
+ NH ₄ -citrat	70	100	100	143	104	149
! NH ₄ -acetat	61	100	114	186	130	213
+ NH ₄ -tartrat	71	100	118	166	138	194
+ Harnstoff	61	100	149	245	175	287
+ Glykokoll	68	100	93	137	132	194
+ Asparagin	130	100	145	112	160	123
! Harnsäure	63	100	63	100	64	102

! Substratmycel zusammenhängend, reichlich entwickeltes Luftmycel.

+ Substratmycel mehr oder weniger zusammenhängend, wenig Luftmycel.

* Mycel knöllchenförmig, unzusammenhängend, kein Luftmycel.

schlecht ausgebildetes Luftmycel ergibt. Mit KNO_3 erhalten wir etwas niedrigere Trockengewichte, aber stets ein gleichmässiges Luft- und ein zusammenhängendes Substratmycel.

Dieselbe Spurenelementmischung fördert die Aufnahme von Nitrat- und Ammoniakstickstoff. Dies steht im Gegensatz zu den von U t i g e r (1942) in der Symbiose *Mucor Ramannianus-Rhodotorula rubra* gemachten Beobachtungen, wo die Ausnützbarkeit der beiden Stickstoffarten durch verschiedene Spurenelementgemische gesteigert wurde.

Meine Ergebnisse stimmen gut mit denjenigen von S a k a m u r a (1934, 1936, 1941), der den Einfluss von Schwermetallen auf die Ammoniak- und Nitrataufnahme bei *Aspergillus oryzae* untersuchte, überein. S a k a m u r a fand, dass Zn, Fe, Cu und Mn die Aufnahme von Nitraten und Ammoniumsalzen förderten. Unabgeklärt blieb die Frage, warum in der Ammoniumnitratkultur Cu hemmend auf die Nitrataufnahme wirkte, obschon mit Cu sowohl bei Nitraten ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) als auch bei Ammoniumsalzen ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) eine Steigerung des Trockengewichts eintrat. S a k a m u r a nimmt an, dass diese Metalle, wenn auch die Wirkung im einzelnen noch unklar ist, bei der Nitratreduktion und der Aminosäuresynthese eine Rolle spielen.

Aneurinkonzentration.

Die Abhängigkeit der Spurenelementwirkung von der Aneurinkonzentration ist aus den Abbildungen 18 und 19 ersichtlich. Die Versuche wurden gleichzeitig durchgeführt, so dass die Ergebnisse mit 2^{0/00} Asparagin und 2,72^{0/00} KNO_3 miteinander verglichen werden können. Mit KNO_3 ist bei einer bestimmten Aneurinmenge das erhaltene Trockengewicht weitgehend von der Zugabe von Spurenelementen abhängig. Die höchsten Trockengewichte werden bei einer bestimmten Aneurinmenge mit den Katalysatoren von Steinberg erreicht. Mit 2^{0/00} Asparagin als Stickstoffquelle fallen die Ergebnisse ähnlich aus. Jedoch sind die durch die Spurenelemente erreichten Steigerungen bedeutend geringer. Die Berthelotkatalysatoren, die mit KNO_3 als Stickstoffquelle nur eine geringe Steigerung des Trockengewichts verursachten, wirken hier bei höheren Aneurinkonzentrationen günstiger als die Spurenelementmischung nach Steinberg. Das unterschiedliche Verhalten von Asparagin und KNO_3 als Stickstoffquelle wird, wie be-

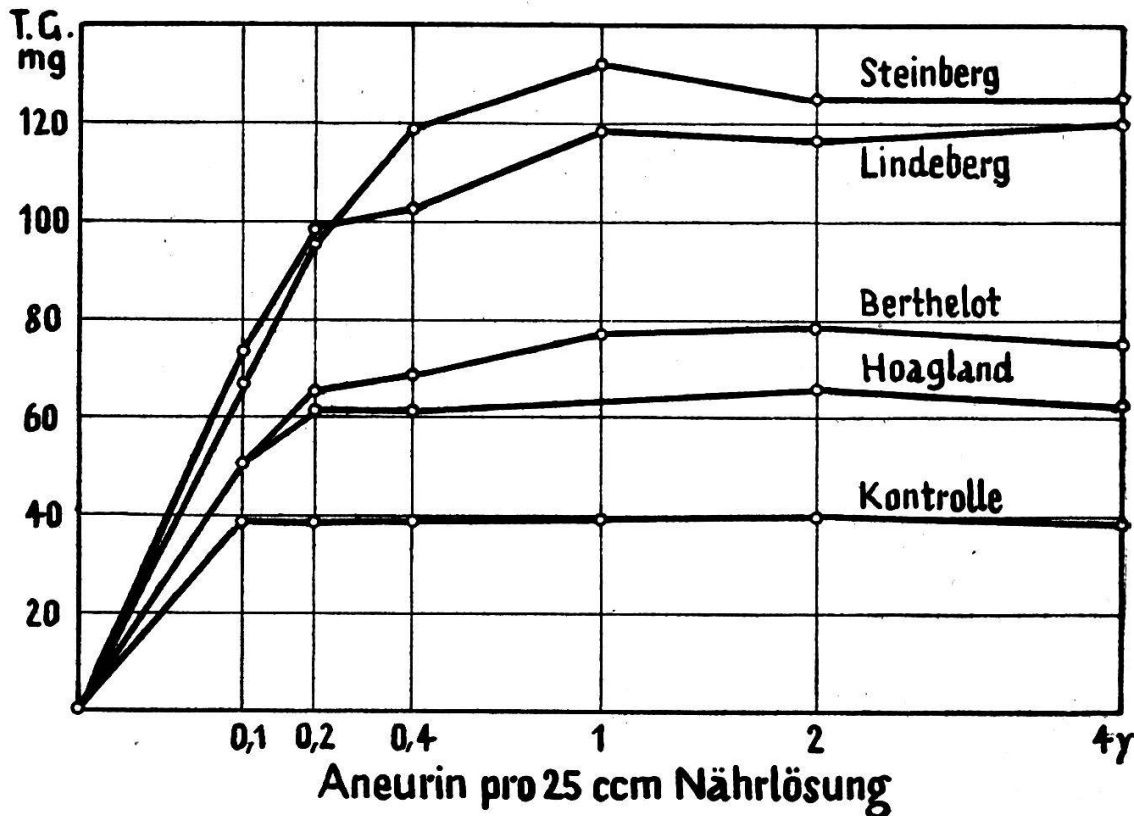


Abbildung 18.

Absidia Lichtheimi: Der Einfluss der Spurenelemente auf den Aneurinkonzentrationsversuch (mit 2,72 ‰ KNO_3 als Stickstoffquelle; für die Aneurinkonzentrationen sind die Wurzelwerte aufgetragen).

reits besprochen, durch den verschiedenen Spurenelementgehalt bedingt. Beim reinen KNO_3 wirkt der Gehalt der Nährlösung an metallischen Katalysatoren schon bei einer geringen Aneurinkonzentration als beschränkender Faktor. Asparagin enthält mehr Spurenelemente, die erst bei höheren Aneurinkonzentrationen als beschränkender Faktor wirken.

Abschliessend sei festgestellt, dass mit metallischen Katalysatoren auf einer wirkstofffreien Nährlösung, oder mit Pyrimidin oder Thiazol allein, kein Wachstum ausgelöst werden konnte. Es stimmt dies mit den Ergebnissen von Utiger (1942) überein, der für die beiden auxoheterotrophen Organismen, *Mucor Ramanianus* und *Rhodotorula rubra*, keine Nährlösung fand, welche die beiden Organismen auxoautotroph werden liess.

Ebenso war es mir nicht möglich, durch Spurenelemente eines der in Tabelle 16 und 17 erwähnten, inaktiven Pyrimidin- oder Thiazolderivate zu aktivieren.

Metallische Katalysatoren allein erlaubten also auf einer wirk-

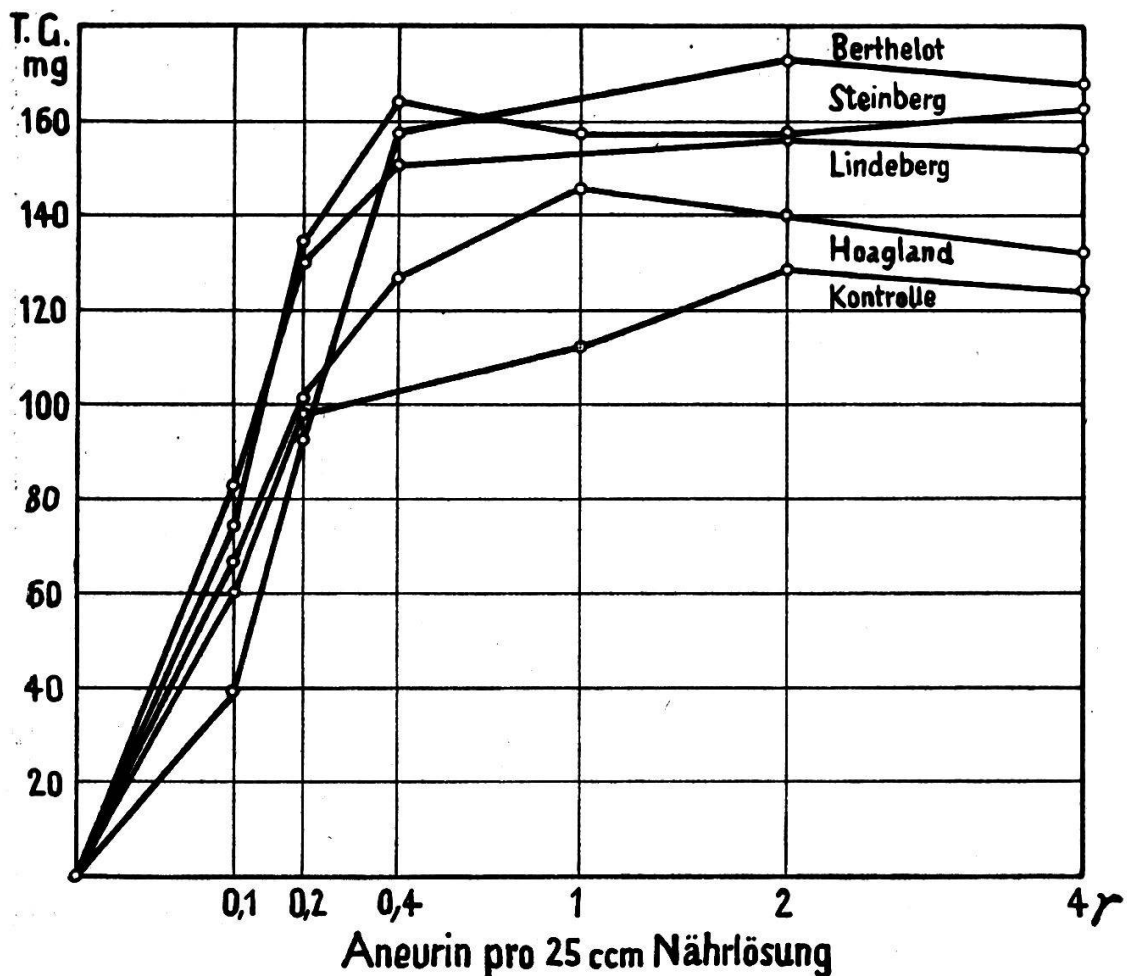


Abbildung 19.

Absidia Lichtheimi: Der Einfluss der Spurenelemente auf den Aneurinkonzentrationsversuch (mit 2‰ Asparagin als Stickstoffquelle; für die Aneurinkonzentrationen sind die Wurzelwerte aufgetragen).

stofffreien Nährlösung keine Entwicklung, bewirkten aber in Anwesenheit von notwendigen Vitaminen unter den angewandten Versuchsbedingungen ein dauerndes Mehrwachstum. Lohmann (1934) erbrachte den Beweis, dass *Aspergillus niger* auf einer mit Tierkohle gereinigten Nährlösung ohne Spurenelemente überhaupt nicht gedeiht. Die Spurenelemente wären in diesem Falle wie die Vitamine für die Entwicklung unbedingt notwendige Hauptwachstumsfaktoren.

2. Das Meerwasser als Quelle von Spurenelementen.

Unter verschiedenen Bedingungen wurde die Wirkung von Meerwasser untersucht. Die Ergebnisse fielen nicht eindeutig aus.

In einzelnen Versuchen konnte eine Förderung bis zu 30 % erzielt werden. In andern wurden mit und ohne Meerwasser ungefähr gleiche Erträge erreicht. Schopfer und Utiger (1941) beobachteten an einem allerdings etwas kümmerlichen Stamm von *Phycomyces Blakesleeanus* Steigerungen bis zu 157 %. Da das von mir verwandte Meerwasser längere Zeit aufbewahrt worden war, und es möglich ist, dass Spurenelemente vom Glas adsorbiert werden, dürfen meine Versuche nicht als absolut sicher betrachtet werden.

3. Der Einfluss von Aschen.

Die Prüfung der Aschen erfolgte mit 1,36 ‰ KNO_3 und 1 ‰ Asparagin als Stickstoffquelle. Die zugegebenen Aschenmengen entsprechen einer 2 ‰igen Lösung der unveraschten, auf das Trockengewicht bezogenen, pflanzlichen Produkte. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 30 ersichtlich. Mit dem spurenelementreichen Asparagin ist die Wirksamkeit der zugegebenen Aschen gering, mit KNO_3 dagegen teilweise beträchtlich. Vor allem fördert Rottannen-, Hefe-, Vollmehl-, Weissmehl- und Randenasche das Wachstum. Auch Asparaginasche erhöht das Trockengewicht ansehnlich. Schon Utiger (1942) beobachtete, dass Aschen organischer Kohlenstoff-Stickstoff-Verbindungen, wie z. B. Asparagin, die Symbiose

Tabelle 30.

Der Einfluss von Aschen auf das Wachstum von *Absidia Lichtheimi*.

Asche	1,36 ‰ KNO_3	1 ‰ Asparagin
Kontrolle	45 mg T.G.	87 mg T.G.
Steinberg	95	106
Holz (Rottanne)	91	96
Hefe	124	92
Weissmehl	111	91
Vollmehl	109	92
Apfel	23	96
Birne	55	85
Karotte	61	99
Rande	103	114
NH_4 -Citrat	58	87
Asparagin	74	—
Glukose	78	—

von *Mucor Ramannianus* und *Rhodotorula rubra* mit Ammonsulfat als Stickstoffquelle ermöglichten. Er schloss daraus, dass die organischen Kohlenstoff-Stickstoff-Verbindungen nicht deshalb günstig auf die Symbiose wirken, weil sie Kohlenstoff und Stickstoff in derselben Verbindung enthalten, sondern weil sie mit Spurenelementen verunreinigt sind.

Zusammenfassung

1. Der für den Hauptteil meiner Untersuchungen benützte Stamm von *Absidia ramosa* aus Baarn scheint wegen der Form und Grösse der Sporen der sehr nahe verwandten Art *Absidia Lichtheimi* anzugehören.

Aus einer Anzahl mit Rindermundspeichel geimpfter Kulturen aus dem Tierspital in Bern konnten Stämme isoliert werden, die ich teils als *Absidia Lichtheimi* (Var. *Rasti*), teils als *Absidia ramosa* Var. *Rasti* und *Zürcheri* bestimmte. Für einen Teil meiner Versuche zog ich einige dieser Stämme bei.

2. *Absidia Lichtheimi* und *Absidia ramosa* gedeihen auf synthetischer, wirkstofffreier Nährlösung nicht. Ein optimales Wachstum wird mit 0,4 γ Aneurin pro 25 ccm Nährlösung ermöglicht. Die Angaben von Schopfer (1937 b) über den Aneurinbedarf von *Absidia ramosa* (nach 1. wahrscheinlich *Absidia Lichtheimi*) wurden somit bestätigt.

Als Kohlenstoffquellen können die meisten Kohlehydrate (ausser Cellulose, Lignin, Xylan und Inulin) sowie höhere Alkohole, als Stickstoffquellen organische Stickstoffverbindungen wie Aminosäuren, Amide (Harnstoff und Asparagin), Peptone und Eiweisse und anorganische wie Nitrate und Ammoniumsalze schwacher Säuren gut ausgenutzt werden.

Absidia Lichtheimi und *ramosa* sind thermophil (Optimum um 37 $^{\circ}$ C, Maximum um 46 $^{\circ}$ C, Minimum um 20 $^{\circ}$ C).

Die optimale Wasserstoffionenkonzentration liegt zwischen pH 3,8 und 6,8.

3. Die Angaben von Schopfer (1937 b) über einen Ersatz von Aneurin durch Pyrimidin und Thiazol bei *Absidia ramosa* (also wahrscheinlich *Absidia Lichtheimi*) konnten bestätigt werden. Das schwache Wachstum auf Pyrimidin allein wurde dagegen nicht

mehr beobachtet. Thiazol allein erlaubte ebenfalls keine Entwicklung. Alle geprüften Stämme aus dem Tierspital in Bern (*Absidia ramosa*, Variationen *Rasti* und *Zürcheri* und *Absidia Lichtheimi*, Var. *Rasti*) verhielten sich gleich.

Die Konstitutionsspezifität des Pyrimidins und des Thiazols ist sehr gross.

4. Die Spurenelementmischungen von Lindberg und Steinberg erwiesen sich als besonders wirksam, während diejenigen von Berthelot und Hoagland nur eine geringe Erhöhung des Trockengewichts verursachten.

Von den untersuchten Spurenelementen sind Zn besonders, Fe, Mn und Cu weniger wirksam. Li, Be, Ca, B, Al, Ti, Sn, Mo, Br, J, Co und Ni beeinflussten unter den gegebenen Versuchsbedingungen das Wachstum kaum oder hemmten in höheren Konzentrationen.

Die fördernden Spurenelemente wirken synergistisch, d. h. sie unterstützen sich gegenseitig.

In einem Zeitversuch nimmt die durch die Spurenelemente bedingte Wachstumsförderung rasch bis zu einem Optimum am Ende der Hauptwachstumsperiode zu, um hierauf bei niederen Stickstoffkonzentrationen langsam, bei hohen Stickstoffgaben schnell abzusinken.

Die durch die metallischen Katalysatoren innerhalb der Hauptwachstumsperiode bedingte Erhöhung des Trockengewichts ist um so ausgeprägter, je höher die Stickstoffkonzentration und je reiner die Stickstoffquelle ist (mit Asparagin bis maximal 82 %, mit KNO_3 bis maximal 275 %).

Meersalz und vor allem Pflanzenaschen können als natürliche Spurenelementquelle dienen und in einzelnen Fällen günstiger wirken als die Steinbergkatalysatoren.

Mit den gebrauchten metallischen Katalysatoren konnte weder auf einer wirkstofffreien Nährlösung noch mit Pyrimidin oder Thiazol allein ein Wachstum ausgelöst werden. Ebenso war es mir nicht möglich, durch Spurenelemente eines der untersuchten, inaktiven Pyrimidin- und Thiazolderivate zu aktivieren. Die verwendeten Spurenelemente konnten also bei einem auxoheterotrophen Organismus Vitamine nicht ersetzen oder die Wirkstoffsynthese ermöglichen.

Die vorliegende Arbeit wurde vom Frühjahr 1943 bis Sommer 1945 im Botanischen Institut der Universität Bern ausgeführt. Ich möchte meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. W. H. Schopfer, für die Ueberlassung des Themas, die wertvolle Unterstützung und das grosse Interesse, das er meiner Arbeit stets entgegenbrachte, meinen herzlichsten Dank aussprechen.

Ferner sei Herrn Chr. Kämpf, Lehrer für Schreibkunst, in Bern, für die sorgfältige Beschriftung meiner Abbildungen gedankt.

Literatur

- Benecke, W.: Ueber die mineralische Nahrung der Pflanzen, insonderheit der Schimmelpilze. — Bot. Zentralbl. 60, 195 (1894).
 — Die zur Ernährung der Schimmelpilze notwendigen Metalle. — Jahrb. wiss. Bot. 28, 487 (1895).
- Berthelot, A.: Nouvelles remarques d'ordre chimique sur la choix des milieux de culture naturels et sur la manière de formuler les milieux synthétiques. — Bull. Soc. Chim. Biol. Paris 16, 1553 (1934).
- Bertrand, G.: Sur le rôle capital du manganèse dans la formation des conidies de l'*Aspergillus niger*. — C. r. Acad. Sci. Paris 154, 381 (1912 a).
 — Extraordinaire sensibilité de l'*Aspergillus niger* vis-à-vis du manganèse. — C. r. Acad. Sci. Paris 154, 616 (1912 b).
 — et M. Javillier: Influence du manganèse sur le développement de l'*Aspergillus niger*. — C. r. Acad. Sci. Paris 152, 225 (1911 a).
 — et M. Javillier: Influence combinée du Zn et du Mn sur le développement de l'*Aspergillus niger*. — C. r. Acad. Sci. Paris 152, 900 (1911 b).
 — et M. Javillier: Influence du zinc et du manganèse sur la composition minérale de l'*Aspergillus niger*. — C. r. Acad. Sci. Paris 152, 1337 (1911 c).
- Biedermann, W. und C. Jernakoff: Die Salzhydrolyse der Stärke. III. Hydrolyse durch anorganische Katalysatoren („künstliche Oxydasen“). — Biochem. Z. 149, 309 (1924).
- Bonner, J. and E. R. Buchmann: Syntheses carried out in vivo by isolated pea roots. — Proc. nat. Acad. Sci. U. S. A. 24, 431 (1938).
 — and J. Erickson: The Phycomyces assay for thiamin (Vitamin B₁): the method and its chemical specificity. — Amer. J. bot. 25, 685 (1938).
- Bortels, H.: Ueber die Bedeutung von Eisen, Zink und Kupfer für Mikroorganismen (unter bes. Berücksichtigung von *Aspergillus niger*). — Biochem. Z. 182, 301 (1927).

- Molybdän als Katalysator bei der biologischen Stickstoffbindung. — Arch. Mikrobiol. 1, 133 (1930).
- Brumpt, E.: Précis de parasitologie. — Masson & Cie., Paris 1936.
- Burström, H.: Ueber die Schwermetallkatalyse der Nitratassimilation. — Planta (Berl.) 29, 292 (1939).
- Cusumano, A.: Studio sull'influenza del boro sulle piante. — Staz. sper. agricolt. ital. 58, 440 (1925). — Bot. Zbl. 10, 77.
- Foster, J. W. and S. A. Waksman: The specific effect of zinc and other heavy metals on growth and fumaric production by *Rhizopus*. — J. Bacter. 37, 599 (1939).
- Fries, N.: Ueber die Bedeutung von Wuchsstoffen für das Wachstum verschiedener Pilze. — Symb. Bot. Ups. III, 2 (1938).
- Gollmick, F.: Der Einfluss von Zink, Eisen, Kupfer und deren Kombination auf das Wachstum von *Aspergillus niger*. — Zentralbl. Bakt. II, 93, 421 (1936).
- Hagem, O.: Neue Untersuchungen über norwegische Mucorineen. — Ann. mycol. 8, 265 (1910).
- Hoagland, D. R. and W. C. Snyder: Nutrition of strawberry plant under controlled conditions: a) Effects of boron and certain other elements; b) Susceptibility to injury from sodium salts. — Proc. of the Am. Soc. Hort. Sci. 30, 288 (1933).
- Hurni, H.: Die Biosynthese von Aneurin in der höheren Pflanze. Der B₁-Gehalt von *Melandrium album* unter verschiedenen Bedingungen. — Diss. Bern, Zeitschr. f. Vitaminforschung 15, H. 3, 1944.
- Zusatzwachstumsfaktoren für *Phycomyces Blakesleeanus*. — Zeitschr. f. Vitaminforschung, Bd. 16, 69, 1945.
- Knight, B. C. J. G.: The nutrition of *Staphylococcus aureus*: Nicotinic acid and vitamin B₁. — Biochem. J. 31, 731 (1937 a).
- The nutrition of *Staphylococcus aureus*. The activities of nicotinamid, aneurin (vitamin B₁) and related compounds. — Biochem. J. 31, 966 (1937 b).
- and H. Mac Ilwain: The specificity of aneurin and nicotinamid in the growth of *Staphylococcus aureus*. — Biochem. J. 32, 1241 (1938).
- Kubowitz, Fr.: Ueber die chemische Zusammensetzung der Kartoffel-oxydase. — Biochem. Z. 292, 221 (1937).
- Lendner, Alfr.: Les Mucorinées de la Suisse. — Matér. Flore crypt. suisse III (1908).
- Leonian, L. H. and Lilly V. G.: Studies on the nutrition of fungi. IV. Factors influencing the growth of some thiamin-requiring fungi. — Amer. Journ. Bot. 27, 18 (1940).
- Lichtheim, L.: Ueber pathogene Mucorineen und die durch sie erzeugten Mykosen des Kaninchens. — Zeitschr. klin. Med. VII, H. 2, 148 (1884).
- Lindeberg, G.: Ueber die Physiologie ligninabbauender Bodenhymenomyceten. — Symb. Bot. Ups. VIII, 2 (1944).
- Lindt, W.: Mitteilungen über einige neue pathogene Schimmelpilze. — Arch. f. exper. Path. und Pharm. XXI, 275 (1886).

- Lohmann, G.: Nährstoffwirkung und Giftwirkung bei *Aspergillus niger*. — Arch. Mikrobiol. 5, 31 (1934).
- Lwoff, A. et H. Dusi: L'activité de diverses pyrimidines considérées comme facteurs de croissance pour les Flagellés *Polytomella caeca* et *Chilomonas paramecium*. — C. r. Soc. biol. Paris 127, 1408 (1938 a).
— et H. Dusi: Influence de diverses substitutions sur l'activité du thiazol, considéré comme facteur de croissance pour quelques Flagellés leucophytes. — C. r. Soc. biol., Paris 128, 238 (1938 b).
- Molisch, H.: Die mineralische Nahrung der niederen Pilze. — Sitzungsber. K. Akad. Wiss. Wien, Math.-Nat. Cl., Abt. I, 103, 554 (1894).
- Molliard, M.: Influence des sels de cuivre sur le rendement du *Sterigmatocystis nigra*. — C. r. Acad. Sci. Paris 175, 838 (1922).
- Müller, W. F.: Zur Wirkstoffphysiologie von *Mucor Ramannianus*. — Diss. Bern, Ber. Schweiz. Bot. Ges. 51, 165 (1941).
— et W. H. Schöpfer: L'action de l'aneurine et de ses constituants sur *Mucor Ramannianus*. — C. r. Acad. Sci. Paris 205, 687 (1937).
- Naumov, N. A.: Encyclopédie Mycologique IX, Clés des Mucorinées. — Paris 1939.
- Pirschle, K.: Vergleichende Untersuchungen über die physiologische Wirkung der Elemente nach Wachstumsversuchen mit *Aspergillus niger*. (Stimulation und Toxizität.) — *Planta* (Berl.) 23, 177 (1934). 24, 649 (1935).
— Die Bedeutung der Spurenelemente für Ernährung, Wachstum und Stoffwechsel der Pflanzen. — 1. Teil: *Erg. Biol.* 15, 67 (1938); 2. Teil: *Erg. Biol.* 17, 255 (1939).
- Plum, N.: Verschiedene Hyphomycetenarten als Ursache sporadischer Fälle von Abortus beim Rind. — *Acta path. microbiol. Scandinav.* 9, 150 (1932).
- Raulin, J.: Etudes chimiques sur la végétation. — *Ann. Sci. Nat. Sér. V*, 11, 93 (1869).
- Ritter, G. E.: Ammoniak und Nitrate als Stickstoffquelle für Schimmelpilze. — *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 27, 582 (1909).
— Ammoniak und Nitrate als Stickstoffquelle für Schimmelpilze. — *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 29, 570 (1911).
- Roberg, M.: Ueber die Wirkung von Eisen, Zink und Kupfer auf *Aspergillen*. — *Zbl. Bakter.* II, 74, 333 (1928).
— Weitere Untersuchungen über die Bedeutung des Zinks für *Aspergillus niger*. — *Zbl. Bakter.* II, 84, 196 (1931).
- Robbins, W. J. and F. Kavanagh: The specificity of pyrimidine for *Phycomyces Blakesleanus*. — *Proc. nat. Acad. Sci. U. S. A.* 24, 141 (1938a).
— and F. Kavanagh: The specificity of thiazol for *Phycomyces Blakesleanus*. — *Proc. nat. Acad. Sci. U. S. A.* 24, 145 (1938b).
— and F. Kavanagh: Vitamin B₁ or its intermediates and growth of certain fungi. — *Amer. J. bot.* 25, 229 (1938c).

- Sakamua, T.: Ammonio- und Nitratophilie bei *Aspergillus oryzae* im besonderen Zusammenhang mit Schwermetallen. — J. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ. Serie V, Vol. III, No. 4 (1934).
- Ueber einige für die Kultur von Aspergillen notwendigen Schwermetalle und das Befreiungsverfahren der Nährlösung von ihren Spuren. — J. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ. Serie V, Vol. IV, No. 3 (1936).
 - Ueber die Ammoniak- und Nitrataufnahme bei *Aspergillus oryzae*, mit bes. Rücksicht auf die Wirkung einiger Schwermetalle und Zuckerarten. — J. Fac. Sci. Hokkaido Imp. Univ. Serie V, Vol. IV, No. 5 (1941).
- Scharrer, K.: Die Biochemie der Spurenelemente. — Berlin (1941).
- Schopfer, W. H.: Les vitamines cristallisées B comme hormones de croissance chez un microorganisme (Phycomyces). — Arch. Mikrobiol. 5, 511 (1934).
- Recherches sur l'utilisation des facteurs de croissance par un microorganisme. La synthèse biologique des facteurs de croissance. — Arch. f. Mikrobiol. 6, 196 (1935).
 - L'action des constituants de l'aneurine sur les levures (*Rhodotorula rubra* et *flava*). — C. r. Acad. Sci. Paris 205, 445 (1937a).
 - L'aneurine et ses constituants, facteurs de croissance de Mucorinées (*Parasitella Absidia*) et de quelques espèces de *Rhodotorula* — C. r. Soc. biol. Paris 126, 842 (1937 b).
 - La spécificité d'action de l'aneurine sur Phycomyces. Le rôle des constituants de l'aneurine et de leurs produits de substitution. — Bull. Soc. bot. suisse, 47, 460 (1937c).
 - La spécificité d'action de l'aneurine sur quelques microorganismes. Action d'un homologue de l'aneurine. C. r. 1er Congrès des microbiologistes de langue française. Paris 28 (1938a).
 - La pyrimidine (2-méthyl-4-amino-5-amino-méthyl-pyrimidine) facteur de croissance de microorganismes (*Rhodotorula*, Mucorinées, *Dematium*). — *Protoplasma* (Berl.) 31, 105 (1938 b).
 - Aneurine et hétérotrophie chez les microorganismes. — Arch. Mikrobiol. 9, 116 (1938c).
 - Vitamine und Wachstumsfaktoren bei den Mikroorganismen, mit bes. Berücksichtigung des Vitamins B₁. — *Erg. Biol.* 16, 1—172 (1939).
 - et S. Blumer: Les facteurs de croissance du genre *Ustilago*. — C. r. Acad. Sci. Paris 206, 1141 (1938).
 - et S. Blumer: Recherches sur la répartition de l'hétérotrophie par rapport à l'aneurine chez les champignons. — Arch. Mikrobiol. 11, 205 (1940).
 - et H. Utiger: L'eau de mer, source de catalyseurs minéraux pour la culture d'un microorganisme (*Phycomyces Blakesleanus*). — C. r. Soc. phys. hist. nat. Genève 58, 135 (1941).
- Siebenmann, F.: Neue botanische und klinische Beiträge zur Otomykose. — Habilitationsschrift Basel 1888.
- Steinberg, R. A.: A study of some factors in the chemical stimulation of the growth of *Aspergillus niger*. — *Amer. Journ. bot.* 6, 330 (1919).

- The nutritional requirements of the fungus *Aspergillus niger*. — Bull. Torrey bot. Club 62, 81 (1935 a).
 - Nutrient solution purification for removal of heavy metals in deficiency investigations with *Aspergillus niger*. — J. agricult. Res. 51, 413 (1935 b).
 - Some effects of the heavy metals essential for the nutrition of *Aspergillus niger* upon its growth. — Amer. J. bot. 23, 227 (1936 a).
 - Relation of accessory growth substance to heavy metals, including molybdenum, in the nutrition of *Aspergillus niger*. — J. agricult. Res. 52, 439 (1936 b).
 - Rôle of molybdenum in the utilization of ammonium and nitrate nitrogen by *Aspergillus niger*. — J. agricult. Res. 55, 891 (1937).
 - Applicability of nutrient solution. Purification to the study of Trace-Element requirements of *Rhizobium* and *Azotobacter*. — J. agricult. Res. 57, 461 (1938).
- Utiger, H.: Neue Untersuchungen über die Bedingungen der künstlichen Symbiose *Mucor Ramannianus-Rhodotorula rubra*. — Diss. Bern, Ber. Schweiz. Bot. Ges. 52, 537 (1942).
- Zycha, H.: Kryptogamenflora der Mark Brandenburg und angrenzender Gebiete, Bd. VI a. — Leipzig: Bornträger 1935.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung: Systematik und Oekologie, Fragestellung	53
I. Allgemeine Ernährungsbedingungen	60
A. Die Nährlösungen	60
B. Die Kohlenstoffquellen	61
C. Die Stickstoffquellen	65
D. Der Einfluss der $MgSO_4$ - und KH_2PO_4 -Konzentration	68
E. Der Einfluss der Temperatur	69
F. Der Einfluss der Wasserstoffionenkonzentration und Veränderung derselben im Laufe der Entwicklung	70
G. Der Einfluss der Impfstärke	73
H. Die Widerstandsfähigkeit der Sporen gegenüber Desinfektions- mitteln	73
II. Das Wirkstoffbedürfnis	75
A. Vitamine	75
1. Aneurin	75
2. Pyrimidin und Thiazol	81
a) Normales Pyrimidin und Thiazol	81
b) Pyrimidinderivate	87
c) Thiazolderivate	89
B. Spurenelemente	90
1. Spurenelementmischungen nach Hoagland, Berthelot, Steinberg und Lindeberg	92
a) Konzentrationsversuche	92
b) Einzeluntersuchung der verwendeten Spurenelemente	93
c) Kombinationsversuche mit den Spurenelementmischungen nach Lindeberg und Steinberg	100
d) Diskussion der verschiedenen Wirksamkeit der untersuch- ten Spurenelementmischungen	100
e) Die Abhängigkeit der Spurenelementwirkung von den Ver- suchsbedingungen	102
2. Das Meerwasser als Quelle von Spurenelementen	110
3. Der Einfluss von Aschen	111
Zusammenfassung	112
Literaturangaben	114

